# Libro Blanco de la Anatomía Patológica en España

**2025**

# Libro Blanco de la Anatomía Patológica en España

**2025**

SEAP-IAP
Sociedad Española de Anatomía Patológica
*InternationalAcademyofPathology*

# Libro Blanco de la Anatomía Patológica en España **2025**

## Recomendaciones de los Grupos de Trabajo para el Diagnóstico Anatomopatológico

Coordina:
Mª Ángeles Torres Nieto

Coeditores:
Francesc Tresserra Casas
Jordi Temprana Salvador

SEAP-IAP
Sociedad Española de Anatomía Patológica
*InternationalAcademyofPathology*

1ª edición (1997)
ISBN: 84-699-3297-7
D.L.: MA-40/2009

Suplemento (1999)
D.L.: NA-2.749/2009

2ª edición (2009)
ISBN: 13:978-84-692-1562-3
D.L.: 2.059/2009

Suplemento (2011)
D.L.: 1.883/2011

3ª edición (2013)
D.L.: M-14.463/2013

4ª edición (2015)
D.L.: VI-319/2015

5ª edición (2017)
URL: www.seap.es/libros-blancos
ISBN: 978-84-697-3704-0

6ª edición (2019)
URL: www.seap.es/libros-blancos
ISBN: 978-84-091-2638-5
D.L.: VI-520/2019

7ª edición (2021)
URL: www.seap.es/libros-blancos
ISBN: 978-84-09-30732-6

8ª edición (2023)
URL: www.seap.es/libros-blancos
ISBN: 978-84-09-50575-3

9ª edición (2025)
URL: www.seap.es/libros-blancos
ISBN: 978-84-09-72896-1

© Sociedad Española de Anatomía Patológica
Jordi Temprana Salvador

## Junta Directiva de la Sociedad Española de Anatomía Patológica

Presidente:
**Santiago Ramón y Cajal Agüeras**

Presidente electo:
**Maria Dolores Lozano Escario**

Presidente anterior:
**Jose Luis Rodríguez Peralto**

Tesorera:
**Empar Mayordomo Aranda**

Secretario:
**Francesc Tresserra Casas**

Vocal de Docencia:
**Enrique Poblet Martínez**

Vocal de Formación Continuada:
**Mª Carolina Martinez Ciarpaglini**

Sub-Vocales de Formación Continuada:
**Johanna Palacios Ball**
**Belén Tristán Martín**

Vocal de relaciones institucionales y temas administrativos:
**Empar Mayordomo Aranda**

Vocal de Comité Científico:
**Blanca González Farré**

Sub-Vocal de Comité Científico:
**Vicente Peg Cámara**

Vocal de Programa del Control de Calidad:
**Vacante**

Vocal de Comunicación y Proyección Social:
**Jordi Temprana Salvador**

Sub-Vocal de Comunicación y Proyección Social:
**Idaira J Expósito Afonso**

Vocal de Ejercicio Libre:
**Agustín Acevedo Barbera**

Vocal de Libro Blanco:
**Mº Ángeles Torres Nieto**

Vocal de Grupos de Trabajo:
**Isabel Colmenero Blanco**

Vocal Representante de Patólogos en Formación:
**Begoña Heras Morán**

Vocal de Biolólogos Moleculares
**Michele Biscuola**

Vocal de Técnicos en Anatomía Patológica:
**Àngels García Sánchez**

Vocal de Edición de Revista Española de Patología:
**Miguel Angel Idoate Gastearena**

## Presidentes de las asociaciones territoriales de la S.E.A.P.

ANDALUCÍA
*Presidente:* Manuel Medina Perez
*Técnico:* Jacinta Dorado Toro
*Secretario:* Rafael Sánchez Sánchez

ARAGÓN
*Presidenta:* Mar García García
*Técnico:* Milagros Chico Rodríguez

ASTURIAS
*Presidenta:* Adela Alonso Fernández-Velasco
*Técnico:* José Fernando Pérez-Fontán Fernández
*Secretario:* Francisco Dominguez Iglesias

BALEARES
*Presidenta:* Alexandra Gene Heym
*Técnico:* Bárbara Gayá Bujosa

CANARIAS
*Presidenta:* Idaira Jael Expósito Afonso
*Técnico:* Noé Liria Martín

CANTABRIA
*Presidenta:* Julia García Reyero
*Técnico:* Marta Gomez Bellla
*Secretaria:* Marta María Cuadrado Rosón

CASTILLA-LA MANCHA
*Presidenta:* Syonghyun Nam Cha

CASTILLA Y LEÓN
*Presidenta:* Rocío Martín López

CATALUÑA
*Presidente:* Joan Carles Ferreres Piñas
*Técnico:* Ingrid Strohecker Santos
*Secretaria:* Cristina Jou Muñoz

EXTREMADURA
*Presidente:* Damaso Parron Collar
*Técnico:* Ruben Arias Bermejo

GALICIA
*Presidenta:* Maria Concepción Fiaño Valverde
*Técnico:* Sonia Mosteiro Lobato
*Secretario:* Jesus Alberto Veiga Barreiro

MADRID
*Presidenta:* Yosemar Carolina Pérez González
*Técnico:* Lorena Sevilla Martín
*Secretaria:* María Jesús Fernández Aceñero

MURCIA
*Presidente:* David Sánchez Gutiérrez
*Secretaria:* Ana Laura Martín Rodríguez

NAVARRA Y LA RIOJA
*Presidenta:* Tania Labiano Miravalles
*Técnico:* Nerea Gómez Pérez

PAÍS VASCO
*Presidenta:* Nerea Miren Segués Merino
*Técnico:* Aitziber Gayoso Alberro

COMUNIDAD VALENCIANA
*Presidenta:* Esther Roselló Sastre
*Técnico:* Daniel Sanchis y Laura Martinez
*Secretaria:* Empar Mayordomo Aranda

Coordinadores de los grupos de trabajo participantes en esta edición

**Grupo de trabajo de Patología Digestiva**
Mar Iglesias Coma

**Grupo de trabajo de Patología de Cabeza y Cuello**
Elena Ruiz-Bravo

**Grupo de trabajo de Patología Digital**
Jordi Temprana Salvador

**Grupo de trabajo de Patología Endocrina**
Carmela Iglesias i Felip

**Grupo de trabajo de Patología Ginecológica**
Adela Saco Álvarez

**Grupo de trabajo de Linfomas**
Santiago Montes Moreno

**Grupo de trabajo de Patología de la Mama**
Vicente Peg Cámara

**Grupo de trabajo de Patología Pulmonar**
Ana Belén Enguita Valls

**Grupo de trabajo de Patología Osteoarticular**
Empar Mayordomo Aranda

**Grupo de trabajo de Patología de Partes Blandas**
Cleofé Romagosa Pérez-Portabella

**Grupo de trabajo de Patología Molecular**
Javier Hernández-Losa

**Grupo de trabajo de Patología Intervencionista**
Karen Villar Zarra

**Grupo de trabajo de Patología Urológica**
Eugenia García Fernández

**Grupo de trabajo de Técnicos Superiores en Anatomía Patológica y Citología**
María del Mar Olmo Fernández

**Grupo de trabajo de Tutores MIR**
Mª del Carmen Gómez Mateo

**Grupo de trabajo de Vocales MIR y de la Comisión Nacional**
Begoña Heras Morán

# Índice

1. PRESENTACIÓN ..... 15
*Santiago Ramón y Cajal Agüeras*

2. INTRODUCCIÓN ..... 17
*Mª Ángeles Torres Nieto*

3. GRUPO DE TRABAJO DE PATOLOGÍA DIGESTIVA DE LA SEAP ..... 19
*Manuel Rodríguez Justo, Elvira González Obeso, Míriam Cuatrecasas, Rebeca Fernández Victoria, Yolanda Rodríguez Gil, Eva Musulén, Hernán Darío Quiceno Arias, María Teresa Rodrigo Calvo, Iván Archilla Sanz, María Jesús Fernández-Aceñero, Jordi Tarragona Foradada, Ana Teijo, Stefania Landolfi, Irene Amat, Maddi Garmendia Irizar, María del Rosario Mercado Gutierrez, Alberto Veiga Barreiro, Francisco Garcia Molina, Laura Alvarez Gigli, Carolina Martinez Ciarpaglini, Anabel Sáez*

Displasia del tracto gastrointestinal más allá de los pólipos:
- Displasia en la unión esófago-cardial: esófago de Barrett. Marcadores diagnósticos y pronósticos ... 21
- Displasia gástrica: tipos y diagnóstico diferencial con los cambios epiteliales reactivos ... 25
- Metaplasia intestinal y displasia gástrica: marcadores diagnósticos. Valoración del pronóstico ... 33
- Displasia intestinal en la EII, una puesta al día. Evolución del concepto y cambios ... 39
- Displasia intestinal en la EII: Tipos de displasia no convencional. Criterios diagnósticos ... 43
- Vías de carcinogénesis en la displasia de la enfermedad inflamatoria intestinal ... 55

Efectos gastrointestinales secundarios a inmunoterapia ... 63
Enfermedad Inflamatoria Intestinal:
- Estudio Macroscópico de piezas quirúrgicas con enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa ... 77
- Valoración de la actividad inflamatoria en la colitis ulcerosa ... 83
- Enfermedad de Crohn: presentación clínica ... 91
- Histología de la enfermedad de Crohn y diagnóstico diferencial con la colitis ulcerosa ... 95
- Colitis indeterminada ... 103
- Citomegalovirus en la enfermedad inflamatoria intestinal crónica ... 107

Actualización diagnóstica en gastritis atrófica ... 111
Actualización lesiones eosinofílicas en el tracto GI:
- Introducción ... 125
- Esofagitis eosinofílica ... 127
- Gastritis eosinofílica ... 133
- Enteritis eosinofílica ... 139
- Colitis eosinofílica ... 143

Biomarcadores en cáncer de colon ... 153

4. GRUPO DE TRABAJO DE PATOLOGÍA DE CABEZA Y CUELLO DE LA SEAP ... 167
*Elena Ruiz-Bravo, Justino Jiménez, Mónica García-Cosío, Joan Lop*

Perfiles moleculares en los tumores malignos de glándula salival ... 169
Displasia epitelial oral ... 181

5. GRUPO DE TRABAJO DE PATOLOGÍA DIGITAL DE LA SEAP ... 197
*Jordi Temprana Salvador, Francesc Tresserra Casas, Johanna Beatriz Palacios Ball, Belén Tristán Martín, Joan Carles Ferreres Piñas*

Encuesta sobre la Patología Digital en España 2024 ... 199

6. GRUPO DE TRABAJO DE PATOLOGÍA ENDOCRINA DE LA SEAP ..... 231
*Carmela Iglesias Felip, Ignacio Ruz Caracuel, Severino Rey Nodar, Maria Teresa Rodrigo Calvo, Hernán Darío Quiceno Arias, Inmaculada Pagán Muñoz, José Manuel Cameselle-Teijeiro*

Actualización en patología paratiroidea ..... 233

7. GRUPO DE TRABAJO DE PATOLOGÍA GINECOLÓGICA DE LA SEAP ..... 247
*Irene Carretero-Barrio, José Palacios Calvo, Belén Pérez-Mies, Esther Guerra, Xavier Matias-Guiu, Natalia Rakislova, Jaume Ordi, Adela Saco*

Heterogeneidad morfológica y molecular en los tumores epiteliales de ovario ..... 249
Guía informe cáncer de endometrio ..... 263
Recomendaciones en el diagnóstico del carcinoma de cérvix ..... 283
Recomendaciones en el diagnóstico del carcinoma de vulva ..... 295

8. GRUPO DE TRABAJO DE LINFOMAS DE LA SEAP ..... 305
*Santiago Montes Moreno, Manuela Mollejo Villanueva, Máximo Fraga, Juan Fernando García, Mar Garcia Garcia, Olga Balagué, Socorro María Rodríguez Pinilla, Empar Mayordomo Aranda, Monica Garcia Cosio-Piqueras, Carlos Aliste, Natalia Papaleo, Sonia Gonzalez de Villambrosia, Mariano Provencio Pulla, Ramón García Sanz*

Recomendaciones para el estudio histopatológico, inmunohistoquímico, citogenético y molecular e informe diagnóstico de los procesos neoplásicos linfoides. Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL ..... 307
Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Introducción ..... 309
Obtención de las muestras para diagnóstico hematopatológico ..... 313
Estudio histopatológico de tejidos hematolinfoides ..... 319
Estudio inmunohistoquímico. Aplicación del inmunofenotipado de neoplasias linfoides ..... 323
Estudio citogenético-FISH ..... 329
Estudio molecular ..... 339
Informe diagnóstico ..... 347
Linfomas B no Hodgkin:
- Linfomas B indolentes:
  - Leucemia linfocítica crónica B/Linfoma B linfocítico de célula pequeña ..... 349
  - Linfoma folicular ..... 359
  - Linfomas de la zona marginal:
    - Linfoma esplénico de la zona marginal ..... 369
    - Linfoma de la zona marginal tipo MALT ..... 375
    - Linfoma de la zona marginal tipo ganglionar ..... 379
  - Linfoma linfoplasmacítico ..... 383
  - Otros procesos linfoproliferativos:
    - Leucemia de células peludas/Tricoleucemia ..... 387
    - Linfoma B esplénico de células pequeñas, difuso de la pulpa roja ..... 391
    - Leucemia/Linfoma esplénico con nucleolo prominente ..... 395
- Linfomas B agresivos:
  - Linfoma de Burkitt ..... 397
  - Linfoma B difuso de célula grande ..... 403
  - Linfoma B de alto grado/Linfoma B difuso de célula grande doble hit ..... 413
  - Linfoma B de células del manto ..... 419
- Mieloma de células plasmáticas/Mieloma múltiple ..... 425

Linfoma de Hodgkin y linfoma de la zona gris ..... 429
Linfomas T y T/NK:
- Leucemias/Linfomas linfoblásticos (T y B) ..... 437
- Linfomas T ganglionares:

Linfoma de células T periférico (NOS) ..... 443
Linfomas ganglionares de células T con fenotipo *follicular helper NOS* ..... 447
Linfoma de células grandes T anaplásico, ALK+ y ALK- ..... 453
Leucemia de linfocitos grandes granulares, leucemia prolinfocítica, linfoma hepatoesplénico ..... 459
Síndromes linfoproliferativos T pediátricos asociados a VEB ..... 467
Linfomas primarios cutáneos ..... 471
Neoplasias de células histiocíticas y de células dendríticas ..... 483
Proliferaciones linfoides no neoplásicas:
Enfermedad de Castleman ..... 487
Enfermedad asociada con IgG4 ..... 497
Enfermedad de Kikuchi-Fujimoto ..... 505
Síndrome linfoproliferativo autoinmune ..... 509
Proliferación linfoblástica T indolente ..... 513
Proliferaciones linfoides asociadas a inmunodeficiencia y disregulación inmune ..... 515

9. GRUPO DE TRABAJO DE PATOLOGÍA MAMARIA DE LA SEAP ..... 521
***Edna Rocío Quinteros, Ignacio Miranda, Vicente Peg***

Correlación radio-patológica en patología de mama ..... 523

10. GRUPO DE TRABAJO DE PATOLOGÍA PULMONAR DE LA SEAP ..... 541
***Ana Belén Enguita Valls, Yolanda Ruano Domínguez***

Estudio intraoperatorio en patología torácica ..... 543
Recomendaciones de estudio molecular en patología torácica ..... 555

11. GRUPO DE TRABAJO DE PATOLOGÍA OSTEOARTICULAR DE LA SEAP ..... 575
***Empar Mayordomo-Aranda, Francisco Giner-Segura, Cleofé Romagosa, Raúl Rajadel Ramada, Paula González Rojo, MDolores Senabre, Carolina Agra, Daniel Azorín, Silvia Bagué, Verónica Blanco, Adriana Canosa, M.Purificación Domínguez-Franjo, Ana Belén Enguita, Isidro Machado, David Marcilla, Samuel Navarro, Luis Ortega, Jose Juan Pozo-Krelinger, Xavier Sanjuan, Gemma Toledo, Antonio Llombart-Bosch***

Claves para un proceso de decalcificación seguro y de calidad ..... 577

12. GRUPO DE TRABAJO DE PATOLOGÍA DE PARTES BLANDAS DE LA SEAP ..... 587
***Ruth Orellana Fernández, Adela Alonso Fernández-Velasco, Elena Prados Pérez, Caterina Fumagalli, Empar Mayordomo Aranda, Cleofé Romagosa Pérez-Portabella, Carmen Salguero Aranda, Juan Díaz Martín, Marta Sese, Enrique de Álava***

Pseudosarcomas: que necesitas saber para evitar sobrediagnosticar el sarcoma ..... 589
Diagnóstico molecular en tumores de partes blandas: claves para un diagnóstico preciso y personalizado ..... 633
Apéndice: Tecnologías alternativas de segunda línea ..... 679

13. GRUPO DE TRABAJO DE PATOLOGÍA MOLECULAR DE LA SEAP ..... 691
***Ana María Muñoz-Mármol, Beatriz Bellosillo, Javier Hernández-Losa***

Cómo redactar un informe de NGS para que sea comprensible para patólogos y oncólogos ..... 693

14. GRUPO DE TRABAJO DE PATOLOGÍA INTERVENCIONISTA DE LA SEAP ..... 711
***Karen Villar Zarra, Héctor Enrique Torres Rivas, Jesús M. Nieves Alonso, María del Mar Olmo Fernández, Luis Manuel Fernández Fernandez, Mario Berrios Hernandez, Maria de la Paz Gonzalez Gutierrez, Santiago Nieto Llanos***

PAAF y BAG con guía ecográfica en Patología Intervencionista ..... 713

15. GRUPO DE TRABAJO DE PATOLOGÍA UROLÓGICA DE LA SEAP ..... 729
*Pilar González-Peramato, Beatrice Popescu, Manuel Nistal, Ferran Algaba, Francisco Díaz Crespo, Eugenia García Fernández, Ainara Azueta Etxebarria, Adriana Katherine Calapaquí Terán, Isabel Trías Puig-Sureda, Rafael J. Luque Barona, Vanessa Moscoso López, María Eugenia Semidey, Inés de Torres*

Biopsia testicular en infertilidad ..... 731
Actualización de las recomendaciones para diagnóstico de piezas de nefrectomía ..... 763
Actualización de las recomendaciones para diagnóstico de piezas de vejiga y vía urinaria ..... 769
Actualización de las recomendaciones para diagnóstico de patología neoplásica del pene ..... 783
Actualización de las recomendaciones para diagnóstico de cáncer de próstata ..... 791

16. GRUPO DE TRABAJO DE TÉCNICOS SUPERIORES EN ANATOMÍA PATOLÓGICA Y CITOLOGÍA ..... 833
*María del Mar Olmo Fernández, Laura Martínez Codes, Cristina Rocío Maldonado Muñoz, María Rosario Castillo Moratilla, Paula García Díaz, Nerea Guerrero Fretes, Silvia Ribagorda García, Karen Villar Zarra*

Manejo de los macrobloques en el servicio de Anatomía Patológica ..... 835

17. GRUPO DE TRABAJO DE TUTORES MIR DE ANATOMÍA PATOLÓGICA DE LA SEAP ..... 845
*Rosa A. Barbella Aponte, Rosa María Ríos Pelegrina, María del Carmen Gómez Mateo*

Tutor de residentes de AP: La columna vertebral de la Formación Sanitaria Especializada ..... 847

18. GRUPO DE TRABAJO DE VOCALES MIR Y DE LA COMISIÓN NACIONAL ..... 857
*Begoña Heras Morán, Vanesa Alzate Isaza, Flavia María del Rosario Alberto*

Calidad docente en la Formación Sanitaria Especializada e impacto en la calidad de vida ..... 859

# Presentación

**Santiago Ramón y Cajal Agüeras**
*Presidente de la SEAP*

Queridos compañeros y compañeras,

Es para mí, como miembro de la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP), un auténtico honor y privilegio poder escribir la presentación del Libro Blanco.

Esta edición es continuidad de la gran labor realizada por Esther Rosselló durante varios años, que continúa Ángeles Torres, y a las que queremos agradecer muy sinceramente su implicación, dedicación y esfuerzos realizados.

En esta edición, se recopilan las actualizaciones más relevantes de los diversos grupos de trabajo de nuestra Sociedad, con aportaciones de múltiples socios, a los que agradezco enormemente este esfuerzo altruista, en beneficio de todos los miembros de la Sociedad.

Pensamos que el Libro Blanco, es una herramienta de expresión de nuestra sociedad que sirve como referencia de estudio, siendo complementario a otras guías de consenso con las que colaboramos, como la que realizamos con la sociedad de Oncología Médica.

Nuestra especialidad, la anatomía patológica, es probablemente el área de la Medicina donde es más necesaria e importante, la actualización permanente de conocimientos, para poder implementarlos en nuestros diagnósticos diarios integrándolos con, cada vez más, datos moleculares. Esto implica una formación continuada, una actualización tecnológica constante y un necesario trabajo en equipo, donde todos somos imprescindibles.

Esta complejidad creciente, junto a la irregular implementación de la tecnología en todo el territorio, hace necesario el trabajo en red para intercambiar conocimiento y medios, como se realiza desde los grupos de trabajo y en las redes de patología digital, que se están desarrollando en las Comunidades Autónomas; Y, asimismo, la centralización de determinados biomarcadores y plataformas moleculares, para optimizar recursos y concentrar conocimiento y experiencia. Estos son nuestros grandes desafíos actuales.

De ahí, que la SEAP, con algo más de 3.000 socios este 2025, estemos realizando un gran esfuerzo para impulsar las actividades conjuntas de los grupos de trabajo, los cursos de formación continuada, tanto presenciales en congresos y reuniones, como online a través de seaponline.

Hemos impulsado nuestra colaboración y lazos con las sociedades iberoamericanas y lusa de anatomía patológica, que ya participan en nuestras reuniones y congresos. Tanto para ellas como para nosotros, es una forma de compartir experiencia, conocimiento y opción de colaboración. En definitiva, conformamos una gran comunidad hispanoamericana de patólogos, cada vez más interconectados.

Animo a todos, a que participéis en las nuevas ediciones del Libro Blanco, que aportéis todos aquella información y comentarios que nos permitan mejorar y seguir actualizando todas las áreas en vuestros respectivos grupos de trabajo.

En futuras ediciones, incorporaremos algoritmos de inteligencia artificial en patología computacional. Esto permitirá una cuantificación más objetiva y reproducible de los biomarcadores necesarios, entre otros, para el diagnóstico oncológico, mejorando la calidad diagnóstica y reduciendo discrepancias y subjetividades.

Finalmente, deciros que ha sido un orgullo ser presidente de la SEAP, con el apoyo de un grandísimo equipo, Empar Mayordomo y Francesc Tresserra. Estamos a vuestra disposición para apoyar y colaborar en lo que necesitéis.

Un abrazo fuerte a todos.

# Introducción

**Mº Ángeles Torres Nieto**
*Coordinadora*

El Libro Blanco de Anatomía Patológica es una herramienta de referencia destinada a los profesionales que actualmente trabajamos en los servicios de Anatomía Patológica, incluyendo patólogos, técnicos y biólogos moleculares.

Su objetivo es proporcionar una guía concisa y accesible que recopile conocimientos y recomendaciones esenciales para el diagnóstico de diversas patologías tanto establecidas como emergentes. No pretende reemplazar a otras publicaciones especializadas, sino ofrecer una guía ágil que facilite a los patólogos las decisiones diagnósticas de forma rápida y eficaz.

Además del enfoque diagnóstico, el libro pretende contribuir a la mejora de la gestión y calidad de los servicios de Anatomía Patológica mediante la recopilación y análisis de encuestas de actividad realizadas a lo largo de los años. Sirve también como referencia en áreas clave dentro de la especialidad como la docencia, la investigación y la innovación en las herramientas diagnósticas.

En esta edición se hace un repaso exhaustivo de múltiples especialidades dentro de la anatomía patológica incluyendo patologías muy frecuentes como las de aparato digestivo, la ginecopatología, uropatología y la patología pulmonar, así como otras menos comunes como la patología de cabeza y cuello, la patología linfoide, la patología paratiroidea y las lesiones pseudotumorales de partes blandas. Se abordan también temas de creciente relevancia, como el estudio de la biopsia testicular en la infertilidad.

El libro incorpora capítulos de gran utilidad práctica para todos los servicios de Anatomía Patológica en el manejo de muestras. Entre ellos, destacan las recomendaciones para la descalcificación ósea, el uso de los macrobloques o la utilidad del uso combinado de la PAAF (Punción Aspiración con Aguja Fina) y la BAG (Biopsia con Aguja Gruesa) para la obtención de muestras diagnósticas.

En la era de la secuenciación masiva (NGS), el grupo de molecular establece los criterios fundamentales para la interpretación y emisión de los informes de patología molecular, esenciales para la selección de las terapias dirigidas en el contexto de la medicina de precisión.

El grupo de patología digital, presenta los resultados de la encuesta sobre el estado actual de la digitalización en los servicios de Anatomía Patológica en España, permitiendo evaluar el grado de implementación, los retos que plantean en términos de infraestructura, formación y aceptación por parte de los profesionales, así como la necesidad de integración con la inteligencia artificial.

El libro dedica dos capítulos a la formación de residentes y al papel de los tutores en su desarrollo profesional. Para ello se presentan los resultados de una encuesta que refleja el estado de la docencia MIR desde la perspectiva de los propios residentes, con sus desafíos y posibles soluciones.

Quiero agradecer y reconocer el trabajo de los distintos grupos que han colaborado en esta edición, al presidente de la SEAP Santiago Ramón y Cajal por su confianza y a Francesc Tresserra y Jordi Temprana por la labor que realizan en la edición del proyecto.

Finalmente, también quiero dar las gracias a mis predecesoras, las Dras Ester Roselló e Isabel Guerra por su orientación y consejos.

# Recomendaciones del Grupo de Trabajo de Patología Digestiva de la SEAP

# Displasia del tracto gastrointestinal más allá de los pólipos:
# Displasia en la unión esófago-cardial: esófago de Barrett. Marcadores diagnósticos y pronósticos

**Manuel Rodríguez Justo**
*Patologo Gastrointestinal y Profesor de Patología, University College London, Cancer Insitute, London UK*

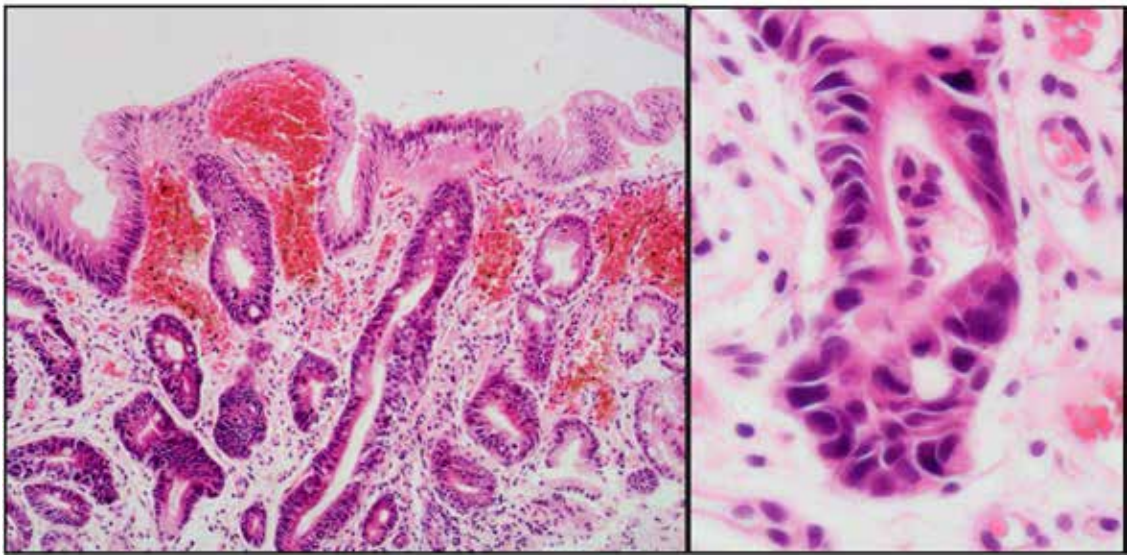
El esófago de Barrett (EB) afecta a individuos con reflujo gastro-esofágico. Su incidencia es variable dependiendo de distintas zonas geográficas (3-14 %), con una prevalencia agrupada del 7,2 %. Actualmente la presencia de displasia es el principal biomarcador para evaluar el riesgo de malignidad (adenocarcinoma) en pacientes con esófago de Barrett.

La progresión de EB a adenocarcinoma sigue la secuencia metaplasia-displasia-carcinoma. Aproximadamente el 15-40 % de los pacientes con EB tendrán un diagnóstico de displasia de bajo grado en algún momento durante su seguimiento. El riesgo de progresión de EB no-displásico a adenocarcinoma se ha estimado en 0,2-0,5 % / año, siendo el riesgo de progresión de 0,4-13,4 %/ año en la displasia de bajo grado y 5-8 % en la displasia de alto grado.

El principal problema en la evaluación de displasia en EB es la reproducibilidad/consenso entre patólogos. Diversos estudios han demostrado mala reproducibilidad entre patólogos para el diagnóstico de displasia de bajo grado (valores κ 0,14-0,32) y para indefinido para displasia (κ 0,21-0,37), con buena reproducibilidad para la displasia de alto grado 1,2. Algunos estudios indican que hasta el 40 % de los casos revisados en centros de referencia por un EB con displasia de alto grado se reinterpretan como displasia de bajo grado o ausencia de displasia.

Hay numerosos estudios que sugieren que la displasia comienza en la base de las criptas y con el tiempo termina afectando la longitud entera de las criptas y el epitelio de superficie. La presencia de maduración (ausencia de atipia) en el epitelio luminal se ha considerado como un criterio de benignidad o «Barrett no displásico». Sin embargo, hasta el 5-7 % de los casos de EB con cambios displásicos en la base de las criptas y maduración del epitelio en superficie presentan los mismos cambios moleculares descritos en la displasia convencional (Figura 1). Este fenómeno se ha denominado «displasia de criptas» con maduración y su presencia es difícil de detectar incluso con técnicas endoscópicas avanzadas. En series iniciales la presencia de este patrón se asoció a displasia convencional y / o adenocarcinoma en más del 80 % de los casos.

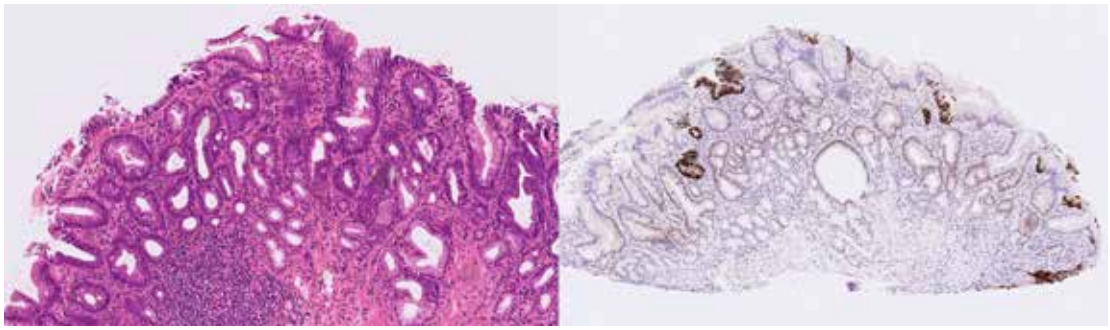
**Figura 1.** Displasia de criptas con maduración en la superficie.



La necesidad de identificar la displasia como único criterio para definir el riesgo de adenocarcinoma en EB puede conducir a sobre- e infradiagnóstico de progresión a malignidad. Diversos marcadores se han propuesto para ayudar en el diagnóstico de displasia en el EB y para predecir el riesgo de progresión:

- **p53:** *TP53*, gen supresor tumoral, es uno de los genes más comúnmente mutados en cáncer. Su inactivación por una mutación posibilita mecanismos de proliferación, inestabilidad genómica y progresión maligna. Varias mutaciones en *TP53* incrementan la vida media de la proteína p53 lo que posibilita que ésta se pueda detectar por inmunohistoquímica (Figura 2). Su uso es todavía controvertido y diferentes guías recomiendan su uso para aumentar la reproducibilidad en la evaluación de displasia[3], mientras que otras sociedades reconocen limitaciones en la interpretación y no aconsejan su uso rutinario[4]. Recientemente varios autores han señalado que la determinación mediante inmunohistoquímica de p53 se correlaciona con mutaciones en *TP53* y que la sobreexpresión o ausencia total de expresión de p53 (patrón nulo) se asocia a la progresión neoplásica independientemente de la presencia histológica de displasia[5].
-

**Figura 2.** Sobreexpresión de p53 en esófago de Barrett.



- **Detección de ploidía.** La detección por citometría de imagen es similar a la citometría de flujo y se puede realizar en tejido de parafina y secciones histológicas rutinarias. La presencia de alteraciones (diploidía, tetraplodía…) en el ADN es un marcador robusto para predecir el desarrollo de displasia / malignidad, incluso en ausencia de criterios histológicos de displasia[6].

1. ***WATS (wide-area transepithelial sampling).*** *La toma de tejido por citología por cepillado en adición a la toma de biopsias (siguiendo el protocolo de Seattle) ha mostrado un incremento significativo en la detección de displasia de alto grado o adenocarcinoma, comparado con la biopsia tradicional*[7].

- **TissueCypher®** es un sistema basado en la detección por inmunofluorescencia de componentes epiteliales y estromales en esófago de Barrett (p16, AMACR, p53, HER2, CK20, CD68, COX-2, Hif1-alpha, CD45RO y tinción con Hoechst). Nuevos estudios indican que *tissuecypher®* predice la presencia de displasia y el riesgo de progresión en EB mejor que un diagnóstico consensuado por patólogos expertos en patología gastrointestinal (con o sin el uso de p53)[8].
- **Carga mutacional** (*tumour mutation burden*). La detección de inestabilidad genómica definida como una carga mutacional elevada (utilizando 10 locus en genes supresores tumorales) parece predecir el riesgo de progresión a displasia de alto grado comparado con pacientes que no muestran carga mutacional incrementada[9].
- Finalmente, la introducción de la **inteligencia artificial/ aprendizaje automático** ha permitido desarrollar numerosas aplicaciones basadas en redes neuronales convolucionales (CNNs) o redes generativas antagónicas (GANs) que permiten una detección más rápida y precisa de alteraciones histológicas, presencia de displasia y predicción de riesgo. Estas aplicaciones podrían reducir la carga de trabajo para patólogos y reducir el uso de marcadores inmunohistoquímicos (p53, TFF3…)[10].

**Tabla 1**. Resumen de biomarcadores en esófago de Barrett.

| Biomarcador | Uso | Comentario |
|---|---|---|
| Displasia | Predictivo | Marcador establecido<br>Problemas con variabilidad inter- e intra-observador |
| p53 | Diagnóstico + predictivo | Variabilidad en algoritmos para definir patrones anormales<br>Posible marcador de progresión en ausencia de displasia |
| Ploidía | Diagnóstico + predictivo | Alta sensibilidad y especificidad, principalmente en displasia de algo grado. Uso poco generalizado |
| TissueCypher® | Diagnóstico + predictivo | Incorpora varios biomarcadores en una sola prueba. Reduce variabilidad inter-observador. Alto coste |
| Carga Mutacional | Diagnóstico + predictivo | Mide alteraciones genéticas. Poco generalizado<br>Necesidad de considerar valores pre-analíticos (calidad del ADN, validación externa…) |

**Bibliografía**

1. Vennalaganti P, Kanakadandi V, Goldblum JR, Mathur. S Dscordance among pathologists in the Unitated States and Europe in diagnosis of low-grade dysplasia for patients with Barrett's esophagus., Patil DT, Offerhaus J y col. Gastroenterology 2017; 152(3): 564-70e4.

2. van der Wel MJ, Coleman HG, Bergman JJGHM, Jansen M, Meijer SL; BOLERO working group. Histopathologist features predictive of diagnostic concordance at expert level maong a large

international sample of pathologists diagnosis Barrett's dysplasia using digital pathology. Gut 2020; 69(5): 811-22.

3. Fitzgeral RC, di Pietro M, Ragunath K, y cols. British Society of GAstroenterology guidelines on the diagnosis and management of Barrett's oesphagus. Gut 2014; 63(1): 7-42.
4. Shaheen NJ, Falk GW, Iyer PG, y cols. Diagnosis and management of Barrett's esophagus: an updated ACG guideline. Am J Gastroenterol 2022; 117: 559-87.
5. Redston M, Noffsinger A, Kim A,y cols. Abnormal *TP53* predicts risk of progression in patients with Barett's Esophagus regardless of a diagnosis of dysplasia. Gastroenterology 2022; 162: 468-81.
6. Dunn JM, Mackenzie GD, Oukrif D, y cols. Image cytometry accurately detects DNA ploidy abnormalities and predicts late relapse to high-grade dysplasia and adenocarcinoma in Barrett's oesophagus following photodynamic therapy. Br J Cancer 2010; 102: 1608-17.
7. van Munster SN, Leclerq P, Haidry R, y cols. Wide-area transepithelial sampling with computer-assisted analysis to detect high grade dysplasia and cancer in Barrett's esophagus: a multicenter randomized stud. Endoscopy 2023; 55(4): 303-10.
8. Khoshiwal AM, Frei NF, Pouw RE on behalf of TissueCypher SURF LGD Study Pathologists Consortium. The Tissue Systems Pathology Test Outperforms Pathology Review in Risk Stratifying Patients With Low-Grade Dysplasia. Gastroenterology 2023, 165(5): 1168-79.
9. Trindade AJ, McKinley MJ, Alshelleh M, y cols. Mutational load may predict risk of progression in patients with Barrett's oesophagus and indefinite for dysplasia: a pilot study. BMJ Open Gastroenterol 2019; 6: e000268.
10. Bouzid K, Sharma H, Killcoyne S, y cols. Enabling large-scale screening of Barrett's esophagus using weakly supervised deep learning in histopathology. Nat Commun 2024; 15: 2026.

# Displasia del tracto gastrointestinal más allá de los pólipos:
# Displasia gástrica: tipos y diagnóstico diferencial con los cambios epiteliales reactivos

**Elvira González Obeso**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínico Universitario de Valladolid*

## CONCEPTO DE DISPLASIA GÁSTRICA

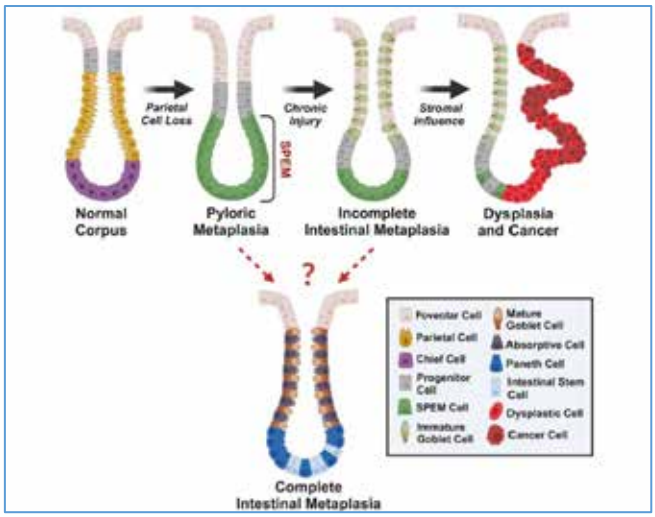
Se considera displasia gástrica la presencia inequívoca de epitelio neoplásico, que puede estar asociada con la presencia de adenocarcinoma u originarlo[1]. La importancia del diagnóstico de displasia radica en determinar el riesgo de progresión y de que se relacione con un cáncer gástrico.

El seguimiento endoscópico con biopsia asociada e incluso extirpación endoscópica de las lesiones se han demostrado suficientes para el tratamiento de la displasia y el control del desarrollo de un adenocarcinoma[2].

Aunque existen diferencias importantes en la interpretación de la displasia gástrica entre oriente y occidente[3], nos centraremos en la visión occidental.

En la Figura 1, tomada de Rhodes y cols., se resume de forma esquemática el proceso de patogénesis de la displasia gástrica a partir de los cambios adaptativos en forma de metaplasia[4], según proponen estos autores.

**Figura 1**. Cambios del epitelio de las glándulas gástricas en el proceso de carcinogénesis. La muerte de las células paritetales (secretoras de ácido) provoca cambios en la composición celular de las glándulas oxínticas del cuerpo gástrico. Primero aparece la metaplasia pilórica con expansion del epitelio foveolar en la superficie de las glándulas y aparición de células SPEM (spasmolytic polypeptide-expressing metaplasia) en la base. La inflamación persistente coexistiendo con la metaplasia pilórica puede provocar que ésta progrese a metaplasia intestinal incompleta (con células caliciformes inmaduras con células SPEM en la base). La metaplasia intestinal incompleta puede evolucionar a metaplasia intestinal completa con la aparición de células caliciformes maduras, células de tipo absortivo y células de Paneth. El crecimiento desordenado en el contexto de una metaplasia intestinal incompleta en el contexto de un microambiente estromal favorable puede dar lugar a la aparición de displasia epitelial.




En el resto del capítulo abordaremos de forma práctica los tipos de displasia gástrica, la gradación y el diagnóstico diferencial con los cambios epiteliales reactivos.

## TIPOS DE DISPLASIA: DISPLASIA CONVENCIONAL Y NO CONVENCIONAL

El paciente prototipo es un varón de 60-70 años (la relación hombre/mujer es 2,4-3,9/1)[5] con displasia localizada en la curvatura menor en antro/incisura angular y asociada a metaplasia intestinal[6].

Los factores de riesgo que favorecen el desarrollo de displasia gástrica son los mismos que los del adenocarcinoma gástrico: infección por *Helicobacter pylori*, gastritis atrófica y metaplasia intestinal[7]. La gastritis autoinmune se asocia a riesgo de desarrollar displasia, pero el riesgo de evolución a un adenocarcinoma es relativamente moderado, en relación con la población general[8,9]. También se ha descrito asociación entre la displasia gástrica y los síndromes polipósicos familiares[10].

**Tabla 1**. Trastornos asociados a displasia gástrica.

| LESIÓN | CONDICIONES ASOCIADAS |
|---|---|
| Displasia intestinal | *Helicobacter pylori*,<br>Gastritis atrófica,<br>Metaplasia intestinal |
| Displasia foveolar | Esporádica,<br>Pólipo de glándulas fúndicas |
| Adenoma de glándulas pilóricas | Gastritis autoinmune,<br>Síndrome de Lynch,<br>FAP |
| Displasia de las criptas | *Helicobacter pylori*,<br>Gastritis atrófica,<br>Metaplasia intestinal |

Modificada de Ushiko y Lauwers[1]

La prevalencia de displasia gástrica sigue una distribución heterogénea con áreas de riesgo alto (9-20 %) y otras donde es menor (0,5-3,75 %)[11], lo que refleja la diferencia entre la prevalencia de los diferentes factores de riesgo, como por ejemplo *Helicobacter pylori,* y las características genéticas de la población de esas regiones.

Los focos de displasia gástrica se visualizan con las técnicas de endoscopia actual como lesiones planas o sobreelevadas. Se reserva el término adenoma gástrico para lesiones polipoideas bien

delimitadas, reservándose el término displasia para lesiones no visibles endoscópicamente o planas[12, 13]. La displasia plana es, con frecuencia, indetectable endoscópicamente, aunque a veces se visualiza como un área de límites imprecisos que si tienen cierto patrón nodular suelen asociarse a displasia de bajo grado y si tienen patrón ligeramente deprimido con o sin erosión se suele asociar a displasia de alto grado[14, 15]. Los adenomas gástricos suelen ser solitarios, sésiles o pediculados, y medir menos de 2 cm, salvo en casos de poliposis adenomatosa familiar[16].

En un inicio la displasia gástrica se consideraba fundamentalmente la displasia intestinal. Posteriormente se describieron nuevos patrones de displasia que se dividían en planos -displasia foveolar, serrada y de las criptas- o polipoides -adenoma de glándulas pilóricas o de glándulas oxínticas[1]-. Hasta la fecha las guías clínicas no tienen en cuenta los diferentes subtipos histológicos que describiremos a continuación. En la **Tabla 2** se detallan los patrones de displasia gástrica. Se distinguen dos grupos, la displasia convencional y la no convencional.

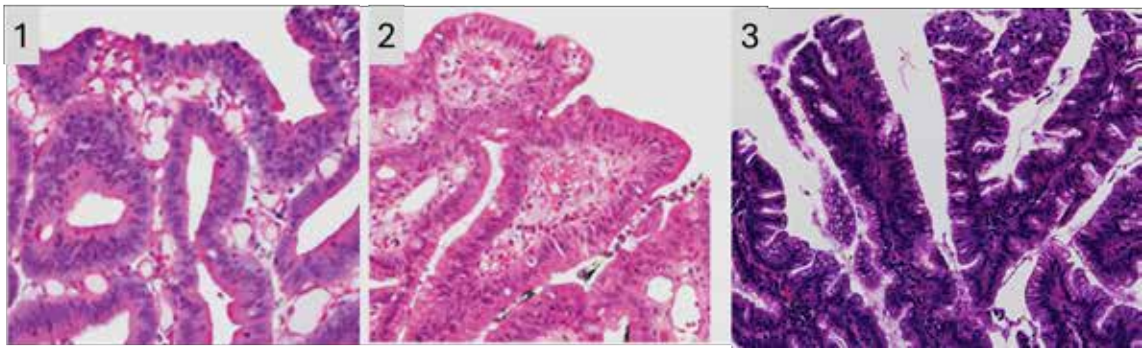
**Tabla 2.** Tipos y patrones de displasia gástrica.

| TIPOS | LESIONES | CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS |
|---|---|---|
| **DISPLASIA CONVENCIONAL** | Displasia intestinal | Glándulas de contorno irregular con células cilíndricas<br>+Núcleos hipercromáticos alargados que se solapan |
| | Displasia foveolar | Fóveas elongadas con céluas cuboideas o cilíndricas bajas con mucina apical<br>+Núcleos hipercromáticos redondeados u ovalados |
| | Displasia serrada | Epitelio foveolar con repliegues (aserramiento) con células cilíndricas bajas con mucina apical<br>+Núcleos hipercromáticos redondeados u ovalados |
| **DISPLASIA NO CONVENCIONAL** | Adenoma de tipo pilórico | Lesión excrecente con glándulas irregulares con una sóla hilera de células cúbicas o cilíndricas bajas con citoplasma eosinófilo pálido<br>+Núcleos redondos basales |
| | Adenoma de células oxinticas | Lesión excrecente con glándulas compactas con células principales o mezcla de células principales y parietales o células mucosas del cuello de las glándulas gástricas |
| | Displasia de las criptas | Glándulas irregulares, ramificadas con budding y células hipercromáticas<br>+Núcleos displásicos redondos u ovalados |

Modificada de Ushiko y Lauwers[1]

En la **Figura 2** se muestran fotografías que ilustran las características histológicas más relevantes de los tipos de displasia convencional, la intestinal, la foveolar y la serrada[1,17].

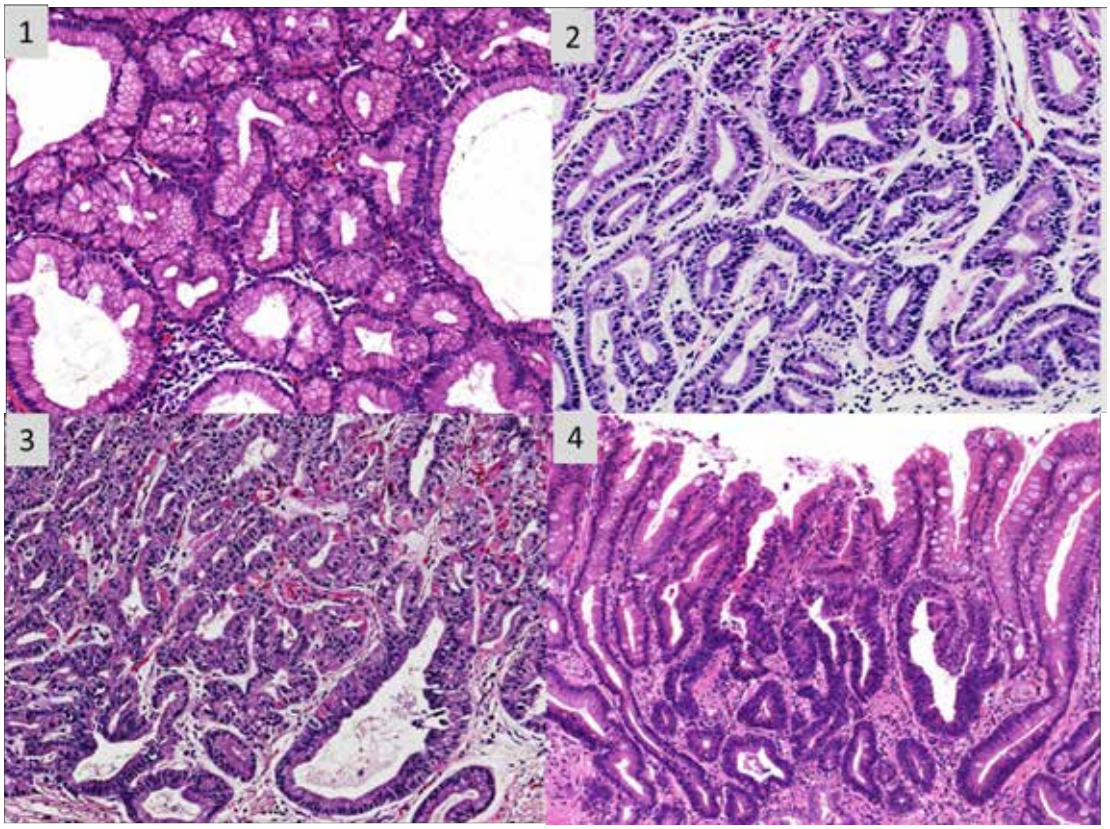
**Figura 2**. Imágenes histológicas de displasia intestinal (1), foveolar (2) y serrada (3).




Las técnicas de inmunohistoquímica muestran postividad para MUC5AC y MUC6 en las partes profundas de las glándulas que tienen displasia de tipo foveolar[18] mientras que la displasia de tipo intestinal suele ser positiva para MUC2[19]. Sin embargo, suelen existir fenotipos híbridos por lo que se prefiere utilizar sólo la hematoxilina-eosina para clasificar los tipos de displasia gástrica.

En la **Figura 3** se presentan las características histológicas más relevantes de los tipos de displasia no convencional, adaptada de Ushiko y Lauwers[1].

**Figura 3.** Adenoma de glándulas pilóricas (1), adenoma de glándulas oxínticas con predominio de células principales (2) y mixto con células parietales y principales (3) y displasia de las criptas con afectación de la la zona profunda de las glándulas gástricas (4).

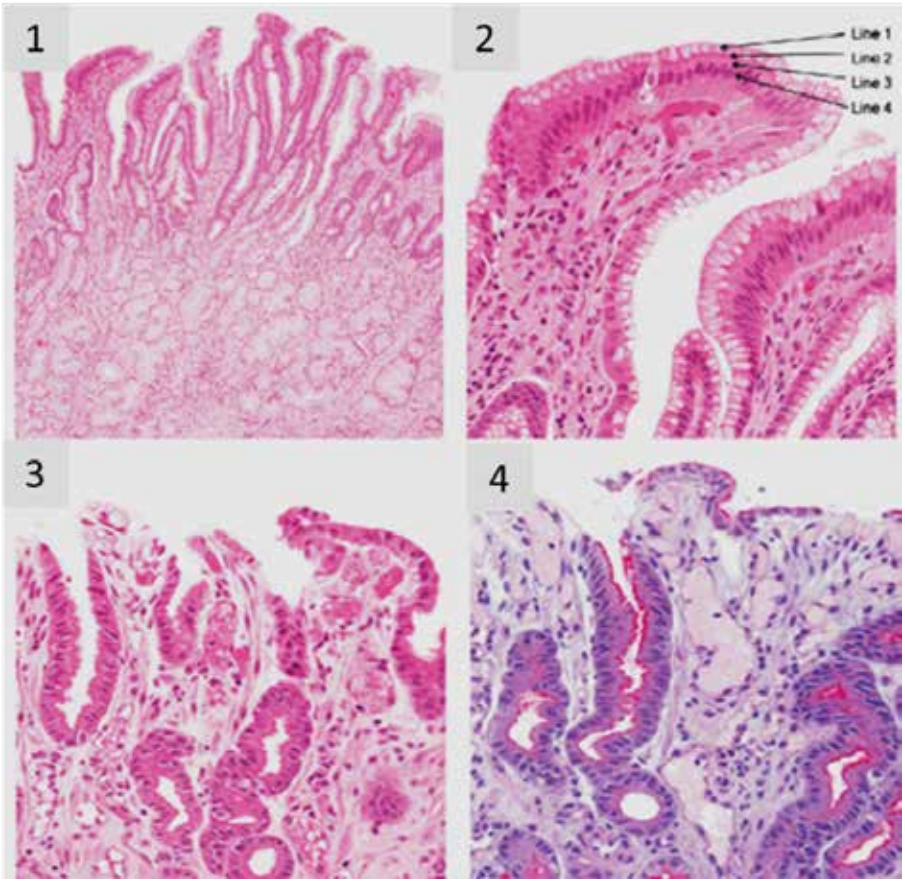


## GRADACIÓN DE LA DISPLASIA

Existe variabilidad interobservador a la hora de diagnosticar displasia de bajo grado en contextos inflamatorios o de ulceración, especialmente cuando las biopsias son pequeñas. La displasia de bajo grado presenta escasa distorsión arquitectural de las glándulas con atipia celular ligera o moderada[20]. Los cambios epiteliales reactivo-regenerativos muestran células con atipia citológica y aumento de la actividad mitótica con distorsión arquitectural variable. Para evitar el diagnóstico erróneo de displasia de bajo grado del epitelio es necesario tener en cuenta el contexto en el que esos cambios epiteliales reactivos se encuentran: 1) fondo inflamatorio con estroma con congestión vascular y tejido de granulación; 2) transición progresiva entre el epitelio con cambios reactivos y el epitelio normal, en vez de transición abrupta como se observa en el caso de displasia; 3) maduración en superficie del epitelio en los cambios reactivos-regenerativos[13]; 4) puede resultar útil valorar la presencia de polaridad en las células epiteliales que revisten las glándulas gástricas.

Waters y cols.[17] proponen valorar 4 líneas en el epitelio, (ver Figura 4) para determinar la ausencia de displasia: línea 1 – mucina intracitoplásmica apical, línea 2 – base de la mucina, línea 3 – citoplasma, línea 4 – núcleos. Si resulta imposible realizar diagnóstico diferencial entre displasia de bajo grado y cambios epiteliales reactivos, se puede utilizar el «indefinido para displasia» recomendando seguimiento clínico y endoscópico con biopsia.

**Figura 4**. Mucosa gástrica normal con polaridad en las células conservadas (1) y a mayor aumento (2) se pueden verlas 4 líneas que proponen Waters y cols.[17]: línea 1 – mucina intracitoplásmica apical, línea 2 – base de la mucina, línea 3 – citoplasma, línea 4 – núcleos. En (3) se muestra una gastropatía por erosión de la mucosa en la que se muestra que las 4 líneas descritas en (2) son imperceptibles en la inmediata vecindad de la erosión, lo que dificulta el diagnóstico de cambios reactivos del epitelio; si se realiza una tinción de PAS-Azul alcián (4) se puede ver un mínimo resto de mucina apical, lo que demuestra que el patrón de 4 líneas está presente en la mucosa en esta zona y que se trata de cambios epiteliales reactivos del epitelio y no de displasia de bajo grado. Imagen modificada de Waters y cols.[17].



El diagnóstico de displasia de alto grado se realizará cuando exista distorsión arquitectural con amontonaminento de las glándulas y presencia de necrosis intraluminal[21]. Las células suelen ser cuboideas o cilíndricas bajas con relación núcleo-citoplasma aumentada, núcleos vesiculosos con nucleolo prominente y pérdida de polaridad y aumento de las mitosis[13].

## SEGUIMIENTO Y TRATAMIENTO

Las características endoscópicas de la lesión, si es visible o no, si es endoscópicamente resecable o no, van a resultar determinantes a la hora de realizar la resección endoscópica completa[22]. Las técnicas avanzadas como endoscopia de alta definición, ecoendoscopia y cromoendoscopia son muy útiles en el tratamiento y seguimiento de estas lesiones.

La *British Society of Gastroenterology* ha detallado una guía de seguimiento y tratamiento de la displasia gástrica en 2019, de forma parecida a la publicada previamente en la *Japanese and European therapeutic guidelines*[23, 24, 25].

**Tabla 3.** Datos de seguimiento y propuesta de tratamiento de los diferentes tipos de displasia gástrica.

| LESIÓN | PROPUESTA DE SEGUIMIENTO Y TRATAMIENTO |
|---|---|
| Displasia intestinal | DBG: ↓ tasa de progression; revision endoscópica anual + biopsia<br>DAG: ↑ tasa de progression; revision biannual con cromoendoscopia + ecoendoscopia es recomendable |
| Displasia foveolar | DBG: ↓ tasa de progression en la presente en pólipos de glándulas fúndicas, no hay datos suficientes de los casos esporádicos ni en la displasia serrada |
| Adenoma de tipo pilórico | DBG: <10 % de tasa de progresión; manejo conservador tras resección completa<br>DAG: resección endoscópica completa |
| Adenoma de células oxínticas | DBG: curso benigno; resección completa<br>DAG: resección endoscópica |
| Displasia de las criptas | Hasta el 25 % progresa a DBG; seguimiento y resección endoscópica |

DBG: displasia de bajo grado; DAG: displasia de alto grado.

### Bibliografía


1. Ushiku T, Lauwers GY. Pathology and Clinical Relevance of Gastric Epithelial Dysplasia. Gastroenterol Clin N Am 2024; 53: 39–55. https://doi.org/10.1016/j.gtc.2023.11.003
2. Kato M, Asaka M. Recent development of gastric cancer prevention. Jpn J Clin Oncol 2012; 42: 987–94.
3. Vieth M, Riddell RH, Montgomery EA. High-grade dysplasia versus carcinoma: east is east and west is west, but does it need to be that way? Am J Surg Pathol 2014; 38: 1453–6.
4. Rhodes JD, Goldenring JR, Lee SH. Regulation of metaplasia and dysplasia in the stomach by the stromal microenvironment. Experimental & Molecular Medicine 2024; 56: 1322–30.
5. Rugge M, Farinati F, Di Mario F, y cols. Gastric epithelial dysplasia: a prospective multicenter follow-up study from the Interdisciplinary group on gastric epithelial dysplasia. Hum Pathol 1991; 22: 1002–8.

6. You WC, Blot WJ, Li JY, y cols. Precancerous gastric lesions in a population at high risk of stomach cancer. Cancer Res 1993; 53: 1317–21.

7. Dinis-Ribeiro M, Areia M, de Vries AC, y cols. Management of precancerous conditions and lesions in the stomach (MAPS): guideline from the European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE), European Helicobacter Study Group (EHSG), European Society of Pathology (ESP), and the Sociedade Portuguesa de Endoscopia Digestiva (SPED). Endoscopy 2012; 44: 74–94.

8. Song M, Camargo MC, Derkach A, y cols. Associations between autoimmune conditions and gastric cancer risk among elderly adults in the United States. Am J Gastroenterol 2022; 117: 486–90.

9. Song M, Latorre G, Ivanovic-Zuvic D, y cols. Autoimmune diseases and gastric cancer risk: a systematic review and meta-analysis. Cancer Res Treat 2019; 51: 841–50.

10. Arnason T, Liang WY, Alfaro E, y cols. Morphology and natural history of familial adenomatous polyposis-associated dysplastic fundic gland polyps. Histopathology 2014; 65: 353–62.

11. Farinati F, Rugge M, Di Mario F, y cols. Early and advanced gastric cancer in the follow-up of moderate and severe gastric dysplasia patients. A prospective study. I.G.G.E.D.–Interdisciplinary Group on Gastric Epithelial Dysplasia. Endoscopy 1993; 25: 261–4.

12. Goldstein NS, Lewin KJ. Gastric epithelial dysplasia and adenoma: historical review and histological criteria for grading. Hum Pathol 1997; 28: 127–33.

13. Lauwers GY, Riddell RH. Gastric epithelial dysplasia. Gut 1999; 45:784–90.

14. Jeon SW. Endoscopic management of gastric dysplasia: cutting edge technology needs a new paradigm. World J Gastrointest Endosc 2010 ;2: 301–4.

15. Kang DH, Choi CW, Kim HW, y cols. Predictors of upstage diagnosis after endoscopic resection of gastric low-grade dysplasia. Surg Endosc 2017; 32: 2732–8.

16. Domizio P, Talbot IC, Spigelman AD, y cols. Upper gastrointestinal pathology in familial adenomatous polyposis: results from a prospective study of 102 patients. J Clin Pathol 1990; 43: 738–43.

17. Waters KM, Salimian KJ, Assarzadegan N, y cols. Cell polarity (the 'four lines') distinguishes gastric dysplasia from epithelial changes in reactive gastropathy. Histopathology 2021; 78: 453–58. DOI: 10.1111/his.14242

18. Naka T, Hashimoto T, Cho H, y cols. Sporadic and familial adenomatous polyposis-associated foveolar-type adenoma of the stomach. Am J Surg Pathol 2023; 47): 91–101.

19. Park DY, Srivastava A, Kim GH, y cols. Adenomatous and foveolar gastric dysplasia: distinct patterns of mucin expression and background intestinal metaplasia. Am J Surg Pathol 2008; 32: 524–33.

20. Misdraji J, Lauwers GY. Gastric epithelial dysplasia. Semin Diagn Pathol 2002; 19: 20–30.

21. Watanabe Y, Shimizu M, Itoh T, y cols. Intraglandular necrotic debris in gastric biopsy and surgical specimens. Ann Diagn Pathol 2001; 5: 141–7.

22. Nakajima T. Gastric cancer treatment guidelines in Japan. Gastric Cancer 2002; 5:1–5.

23. Banks M, Graham D, Jansen M, et al. British society of gastroenterology guidelines on the diagnosis and management of patients at risk of gastric adenocarcinoma. Gut 2019; 68:1545–75.

24. Japanese Gastric Cancer A. Japanese gastric cancer treatment guidelines 2014 (ver. 4). Gastric Cancer 2017; 20: 1–19.

25. Pimentel-Nunes P, Dinis-Ribeiro M, Ponchon T, y cols. Endoscopic submucosal dissection: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline. Endoscopy 2015; 47: 829–54.

# Displasia del tracto gastrointestinal más allá de los pólipos:
# Metaplasia intestinal y displasia gástrica: marcadores diagnósticos. Valoración del pronóstico

**Míriam Cuatrecasas**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínic de Barcelona, Instituto de Investigación Biomédica Agust Pi i Sunyer (IDIBAPS) y Departmento de Fundamentos Clínicos, Universidad de Barcelona (UB), Barcelona*

El adenocarcinoma gástrico de tipo túbulo-papilar (intestinal) está precedido por una secuencia de lesiones histológicas con características bien definidas, descrita en 1975 y conocida como cascada de Correa: gastritis no atrófica → gastritis atrófica multifocal → metaplasia intestinal (MI) completa → MI incompleta → displasia (1).

En 1983 se identificó *H. pylori* como agente causal de gastritis y que la infección sostenida puede durar décadas que preceden a la transformación maligna (2). El daño epitelial causado por la inflamación gástrica prolongada y grave puede causar una atrofia gástrica que puede ser multifocal, caracterizada por la pérdida de células parietales y principales en la mucosa oxíntica y/o pérdida de unidades glandulares en la mucosa oxíntica o antropilórica. Posteriormente, el epitelio gástrico puede ser reemplazado por epitelio con fenotipo intestinal. La MI se puede observar en cualquier localización, siendo más frecuente en la curvatura menor gastrica. En la mucosa oxíntica, las células parietales y principales pueden ser reemplazadas por metaplasia pseudopilórica. Tanto la MI como la seudopilórica son manifestaciones de la atrofia gástrica. Con el tiempo, los focos de atrofia y MI pueden aumentar de tamaño, fusionarse y ocupar grandes áreas. La mayoría de los CG son de tipo intestinal, que se caracterizan por marcada aneuploidía.

## VALOR PRONÓSTICO DE LA LA METAPLASIA INTESTINAL Y LA DISPLASIA

Se ha recomendado la subtipificación histológica de la MI, dado que puede influir en el riesgo de desarrollar un CG. Se cree que se MI completa ocurre inicialmente y conlleva un riesgo menor de cáncer gástrico, pudiendo transformarse en metaplasia incompleta, que presenta un riesgo mucho mayor de progresión. No obstante, se ha objetivado que la MI incompleta parece estar presente solo en una minoría de pacientes con CG, lo que pone en duda la linealidad de la teoría de Correa (3).

**Todos los tipos de displasia tienen riesgo de progresión.** A diferencia de la atrofia gástrica o MI, no se dispone de una herramienta de evaluación que prediga el riesgo de progresión de la displasia debido a su historia natural poco clara (4-7). Sin embargo, los pacientes con mayor riesgo de CG son:

- MI extensa (2 veces)
- MI incompleta (3 veces)
- Antecedentes familiares de primer grado con CG (5 veces)
- Etnia no caucásica (2 a 4 veces).

Sin embargo, es importante resaltar que a pesar de que la MI se reconoce como un marcador de mayor riesgo de CG, solo una pequeña proporción de pacientes con MI desarrollará CG, con un riesgo anual de ~0,16 %(7,8), lo que genera incertidumbre sobre si la MI es un paso requerido previo al desarrollo del CG, y sigue siendo cuestionable si la MI es un precursor directo (8).

**El riesgo de progresión se basa en la solidez de la clasificación de la displasia, así como en la estadificación de la atrofia coexistente**. Hay evidencias que sugieren que la mayoría de las displasias leves y moderadas (sistema de clasificación de 3 niveles) o displasias de bajo grado (DBG) (sistema de 2 niveles), suelen regresar o persistir a largo plazo, con riesgo de progresión a cáncer gástrico (CG) de 0 % a 40 %. En el caso **de displasia grave o de alto grado (DAG)**, el 50 %–60 % de los pacientes progresarán a CG en un corto período de tiempo y suele detectarse concomitantemente con lesiones cancerosas (9), por lo que las guías actuales recomiendan la vigilancia endoscópica y el tratamiento de las lesiones precancerosas en pacientes de riesgo antes de que se desarrolle el CG (8-9). Sin embargo, la mayoría de estos datos provienen de países occidentales, por lo que se deben tener en cuenta las diferencias en los factores ambientales y genéticos, así como la prevalencia de *H. pylori* de los países orientales.

La **displasia de inmunofenotipo gástrico no polipoide tiene mayor agresividad biológica que la intestinal** y puede representar la lesión precursora en una vía de carcinogénesis gástrica originada *de novo* a partir de la mucosa gástrica nativa, originando CG (8).

La mayoría de las **neoplasias intraepiteliales no asociadas a *H. pylori* son poco agresivas** en comparación con las asociadas a *H. pylori.* Expresan inmunofenotipo gástrico debido a la oncogénesis en el epitelio gástrico no atrófico sin MI, con expresión de CDX2 (100 %) como marcador de diferenciación intestinal, MUC2, CD10 y p53 (92 %), MUC5AC (14 %) y, b-catenina citoplasmática y ausencia de exresión de MUC6. No suelen progresar a carcinoma invasivo, sobre todo el adenoma gástrico foveolar y la displasia de tipo intestinal (9). Aunque en Japón se diagnostican como adenocarcinomas, los patólogos occidentales las consideran lesiones precancerosas. Suelen tener pocas mutaciones somáticas y la mucosa gástrica adyacente presenta pocas aberraciones epigenéticas, lo que explica el bajo potencial maligno. En las asociadas a *H. pylori* el fenotipo gástrico progresa rápidamente a CG y metástasis ganglionares. Cabe recalcar que la displasia de tipo intestinal no asociada a *H.pylori* es morfológica e inmunohistoquímicamente igual que la asociada a infección por este germen, pero es más frecuente en mujeres (46 %; 18/41) y la edad media es inferior (56 años, rango, 30-75 años) (10,11).

**Bibliografía**

1. Correa P, Haenszel W, Cuello C, Tannenbaum S, Archer M. A model for gastric cancer epidemiology. Lancet. 1975; 2: 58-60.

2. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacillus on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet Oncol. 1983; 1: 1273-5.

3. Gonzalez CA, Sanz-Anquela JM, Gisbert JP, Correa P. Utility of subtyping intestinal metaplasia as marker of gastric cancer risk. A review of the evidence. Int J Cancer. 2013; 133: 1023-32.

4. Kushima R, Lauwers GY, Rugge M. Gastric dysplasia. In: WHO Classification of Tumors Editorial Board, ed. Digestive system tumors. 5th ed. Geneva: WHO Press, 2019:71–5.

5. Ruth Zhang, Peter S. Rabinovitch, Aras N. Mattis, Gregory Y. Lauwers, Won-Tak Choi. Gastric intestinal metaplasia in mucosa adjacent to gastric cancers is rarely associated with the aneuploidy that is characteristic of gastric dysplasia or cancer. Am J Surg Pathol 2021; 45: 1374–81.

6. Ahrong Kim, Sang-Jeong Ahn, Do Youn Park, y cols. Gastric crypt dysplasia: a distinct subtype of gastric dysplasia with characteristic endoscopic features and immunophenotypic and biological anomalies. Histopathology. 2016; 68: 843-9. doi: 10.1111/his.12860. PMID: 26336971. DOI: 10.1111/his.12860

7. Rugge M, Cassaro M, Di Mario F, Leo G, Leandro G, Russo VM, Pennelli G, Farinati F; Interdisciplinary Group on Gastric Epithelial Dysplasia (IGGED). The long term outcome of gastric non-invasive neoplasia. Gut. 2003 Aug;52(8):1111-6. doi: 10.1136/gut.52.8.1111. PMID: 12865267; PMCID: PMC1773761.

8. Pedro Valente, Mónica Garrido, Irene Gullo, y cols. Epithelial dysplasia of the stomach with gastric immunophenotype shows features of biological aggressiveness. Gastric Cancer 2015; 18: 720–8. DOI 10.1007/s10120-014-0416-5

9. Shibagaki K, Itawaki A, Miyaoka Y, y cols. Intestinal-type gastric dysplasia in Helicobacter pylori-naïve patients. Virchows Arch. 2022; 480: 783–92.

10. Shibagaki K, Kushima R, Mishiro T, y cols. Gastric dysplastic lesions in Helicobacter pylori-naïve stomach: Foveolar-type adenoma and intestinal-type dysplasia. Pathol Int. 2024; 74: 423-37. doi: 10.1111/pin.13456. Epub 2024 Jun 5. PMID: 38837872.´

11. Shibagaki K, Itawaki A, Miyaoka Y, y cols. Intestinal-type gastric dysplasia in Helicobacter pylori-naïve patients. Virchows Arch. 2022; 480: 783-92. doi: 10.1007/s00428-021-03237-9. Epub 2021 Nov 17. PMID: 34787713.

## ANEXO: CLASIFICACIÓN DE VIENA DE LAS NEOPLASIAS GÁSTRICAS

Se creó para resolver varios problemas: (a) conseguir una terminología útil, con buenas definiciones dentro y entre cada categoría, que sea reproducible entre observadores y pueda utilizarse internacionalmente, (b) una terminología coherente en distintas localizaciones del tracto gastrointestinal, y (c) aceptado por patólogos y gastroenterólogos (1). Puede ser aplicable a todo el tracto gastrointestinal, incluyendo el epitelio escamoso del esófago, esófago de Barrett, estómago, intestino delgado, intestino grueso y el ano. Es un sistema en cinco categorías:

### Categoría 1: negativa para neoplasia/displasia

Incluye la mucosa gástrica normal o varias gastritis (Helicobacter pylori) o gastropatías (asociada a reflujo biliar o a antiinflamatorios no esteroideos (AINE), así como la metaplasia intestinal.

### Categoría 2: indefinida para neoplasia/displasia

Este diagnóstico debe realizarse cuando haya incertidumbre sobre la naturaleza de la lesión, ya sea que represente un proceso regenerativo/reactivo o una lesión neoplásica.

La causa de la dificultad diagnóstica podría ser secundaria a la inflamación (a veces relacionada con la gastritis por H. pylori) o por cambios químicos reactivos (gastritis por reflujo biliar, gastropatía por AINE) o debido a una biopsia insuficiente (pequeño tamaño pequeño, artefacto de aplastamiento).

### Categoría 3: Neoplasia no invasiva, bajo grado (adenoma/displasia de bajo grado)

Representa un proceso neoplásico inequívoco, de bajo grado, con bajo riesgo de transformación maligna.

### Categoría 4: Neoplasia no invasiva, alto grado (adenoma/displasia de alto grado)

Grupo de lesiones con características histológicas más severas que las observadas en la displasia de bajo grado, pero sin signos de invasión. Esta categoría se ha subdividido en tres grupos:

- 4.1 Adenoma/displasia de alto grado
- 4.2 Carcinoma no invasivo (carcinoma *in situ)*
- 4.3 Sospechoso de carcinoma invasivo

La agrupación de esos tres tipos de lesiones distintas ha conseguido una alta concordancia interobservador en el diagnóstico de displasia gástrica, tanto entre patólogos japoneses como occidentales. La palabra «no invasivo» representa la ausencia de invasión evidente. Por lo que incluye una lesión que los patólogos japoneses clasificarían como carcinoma *in situ* basado en la presencia de alteraciones citológicas notables, pero que la mayoría de los patólogos occidentales interpretarían como displasia de alto grado debido a la ausencia de invasión.

### Categoría 5: Neoplasia invasiva

Esta categoría abarca:

- 5.1 Carcinoma intramucoso
- 5.2 Carcinoma submucoso o más

El carcinoma intramucoso corresponde al adenocarcinoma con invasión limitada a la lámina propia o la muscularis mucosa.

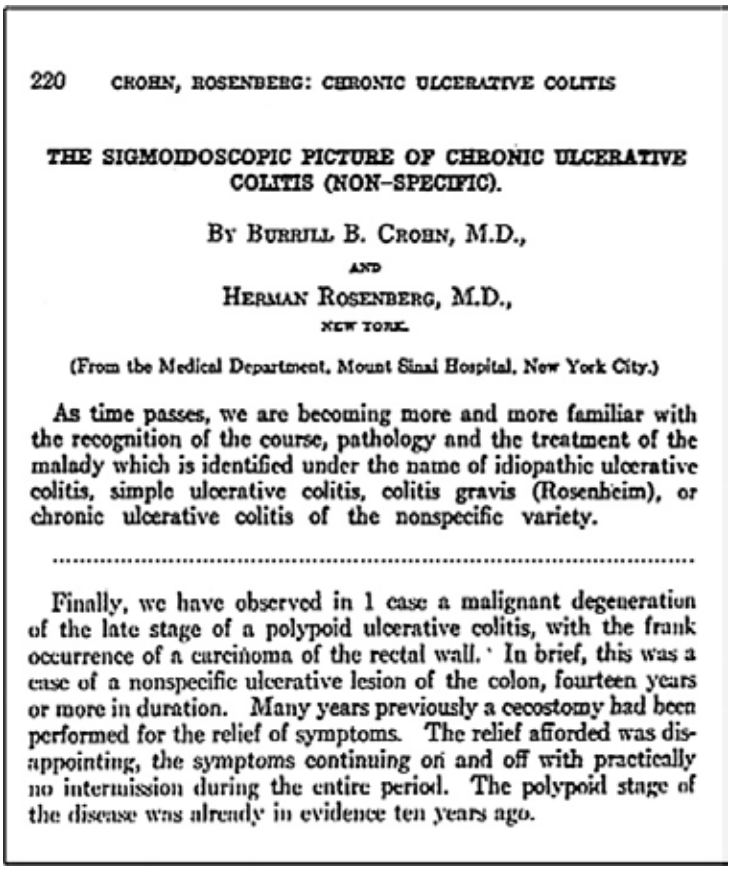
**Bibliografía**

1. Rugge M, Correa P, Dixon MF, et al. Gastric dysplasia: the Padova international classification. Am J Surg Pathol 2000; 24:167–76.

# Displasia del tracto gastrointestinal más allá de los pólipos:
# Displasia intestinal en la EII, una puesta al día. Evolución del concepto y cambios de nomenclatura

**Rebeca Fernández Victoria**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Álvaro Cunqueiro, Vigo*

En el año 1925 Crohn y Rosenberg publicaron un caso de carcinoma rectal en una colitis ulcerosa complicada y sugirieron por primera vez el desarrollo de neoplasias como secuela de la enfermedad.



220 CROHN, ROSENBERG: CHRONIC ULCERATIVE COLITIS

THE SIGMOIDOSCOPIC PICTURE OF CHRONIC ULCERATIVE COLITIS (NON-SPECIFIC).

BY BURRILL B. CROHN, M.D.,
AND
HERMAN ROSENBERG, M.D.,
NEW YORK.

(From the Medical Department, Mount Sinai Hospital, New York City.)

As time passes, we are becoming more and more familiar with the recognition of the course, pathology and the treatment of the malady which is identified under the name of idiopathic ulcerative colitis, simple ulcerative colitis, colitis gravis (Rosenheim), or chronic ulcerative colitis of the nonspecific variety.

.....

Finally, we have observed in 1 case a malignant degeneration of the late stage of a polypoid ulcerative colitis, with the frank occurrence of a carcinoma of the rectal wall. In brief, this was a case of a nonspecific ulcerative lesion of the colon, fourteen years or more in duration. Many years previously a cecostomy had been performed for the relief of symptoms. The relief afforded was disappointing, the symptoms continuing on and off with practically no intermission during the entire period. The polypoid stage of the disease was already in evidence ten years ago.

Unos pocos años después, Barger publicó ya una serie de 17 casos similares. Desde entonces y después de un conocimiento más profundo de la enfermedad inflamatoria crónica intestinal (EII), se sabe que los pacientes que padecen una EII pueden llegar a desarrollar un cáncer colorrectal (CRC)[1]. En EEUU, por ejemplo, menos del 1 % de todos los CCR se asocia a EII. En el año 2001, un metaanálisis de 116 estudios estimó el riesgo de cáncer en pacientes con colitis ulcerosa que resultó ser un 2 % después de 10 años de enfermedad, un 8,5 % después de 20 años y un 17,8 % después de 30 años. Sin embargo, algún estudio posterior demostró un riesgo algo más bajo, aunque en general el riesgo relativo de displasia o CCR se incrementa después de 8-10 años de enfermedad.Las características asociadas a un mayor riesgo de desarrollo de displasia o cáncer en la EII, incluyen: el tiempo de evolución de la enfermedad, la extensión anatómica de la afectación, la presencia o ausencia de colangitis esclerosante, los antecedentes familiares de CCR, el inicio de la enfermedad en edad temprana y el grado /severidad de afectación endoscópica e histológica.

El concepto tradicional de lesiones displásicas precancerosas en la EII describía las lesiones como «elevadas» y «no elevadas» con alteraciones histológicas epiteliales. Estas lesiones se clasificaban como displasia de bajo grado (cambio adenomatoso) y se caracterizaban por una elongación nuclear con hipercromatismo y seudoestratificación, mientras que la de alto grado mostraba mayor grado de alteración citológica y arquitectural.

Dependiendo de la apariencia endoscópica, las lesiones elevadas se subclasificaban como «de tipo adenomatoso» (cuando tenían configuración polipoide, con contorno simétrico, superficie lisa y borde bien definido) y «no adenomatosas» (cuando la configuración era irregular, multinodular o en placa, con contorno mal delimitado). Este último caso se definía como «displasia asociada a colitis («CAD») y durante décadas fue muy popular el término «displasia asociada a lesión o masa» (DALM), un término confuso que se fue dejando de utilizar[2]. Durante décadas, la distinción entre una lesión de tipo *CAD* o un pólipo esporádico fue crucial para el manejo del paciente con EII dado que el diagnóstico de *DALM*, asociado a un alto riesgo de malignidad, comportaba una colectomía total. Actualmente, con el progreso de las técnicas endoscópicas, las lesiones polipoides en la EII se extirpan y el paciente hace controles endoscópicos de seguimiento, aunque todavía se duda si las lesiones de tipo adenomatoso corresponden a adenomas convencionales o se relacionan con el daño inflamatorio crónico de la mucosa.

En 1983 se empezó a utilizar el sistema de gradación de la displasia asociada a EII propuesto por Ridell y cols como guía de manejo para los pacientes con displasia en la EII. En este sistema la displasia se gradaba en bajo grado o alto grado, como ya se ha comentado. Posteriormente, desde 2015 un consenso internacional conocido como SCENIC (*Surveillance for Colorectal Endoscopic Neoplasia Detection and Management in Inflammatory Bowel Disease Patients: International Consensus Recommendations*) especificó las técnicas endoscópicas indicadas en el seguimiento el manejo de la displasia en la EII[3]. Las guías SCENIC pasan a darle una nueva relevancia a otro tipo de displasia según sea visible o no a nivel endoscópico. También se actualizó la clasificación de las lesiones, abandonando los términos de lesiones de tipo adenomatoso y no adenomatoso, que fueron sustituidos por displasia visible e invisible adaptando la terminología de la clasificación endoscópica de Paris[4].

**Tabla 1.** Terminología para la apariencia endoscópica de lesiones en la vigilancia de displasia en la enfermedad inflamatoria intestinal adoptada por el consenso SCENIC[3].

| Term | Definition |
|---|---|
| Visible dysplasia | Dysplasia identified on targeted biopsies from a lesion visualized at colonoscopy |
| Polypoid | Lesion protruding from the mucosa into the lumen ≥2.5 mm |
| Pedunculated | Lesion attached to the mucosa by a stalk |
| Sessile | Lesion not attached to the mucosa by a stalk |
| Non-polypoid | Lesion with little (<2.5 mm) or no protrusion above the mucosa |
| Superficial elevated | Lesion with protrusion but <2.5mm above the lumen |
| Flat | Lesion without protrusion above the mucosa |
| Depressed | Lesion with at least a portion depressed below the level of the mucosa |
| Invisible dysplasia | Dysplasia identified on random (non-targeted) biopsies of colon mucosa without a visible lesion |

En el caso de que sea visible (bien polipoide o sobreelevada), la displasia podría ser manejada con resección endoscópica y la invisible (plana) necesitaría tratamiento quirúrgico /colectomía.

Además de las lesiones adenomatosas ya descritas, en la EII se pueden encontrar lesiones serradas, caracterizadas por un contorno glandular serrado, no siempre asociados a displasia citológica clásica, como por ejemplo la «lesión serrada sésil» (LSS) o el «adenoma serrado tradicional» (AST), que se asocian a la vía de carcinogénesis llamada «vía serrada». En los pacientes con EII o CCR asociado a EII es frecuente encontrar lesiones serradas que no cumplen criterios de LSS o AST. De hecho, el uso generalizado de la cromoendoscopia y la endoscopia de alta definición en las colonoscopias de seguimiento en los pacientes con EII, ha hecho que cada vez más se identifiquen lesiones más sutiles del tipo «no adenomatoso». Ello ha propiciado la descripción de nuevas lesiones histológicas que se conocen en su conjunto como **cambios epiteliales/lesiones no convencionales**, incluidas lesiones no adenomatosas y no serradas, que se han descrito en pacientes con EII y CCR y se podrían considerar también lesiones precursoras de cambios neoplásicos. De hecho, se reconoce la naturaleza displásica de estas lesiones como precursoras del CCR asociado a la EII y por tanto, se consideran variantes de la *CAD*.

Ante estas observaciones, un grupo de expertos en EII ha propuesto recientemente una nueva clasificación para lesiones displásicas/ precursoras de malignidad asociadas a la EII (se presentó en formato resumen de la USCAP en 2017)[5]. Posteriormente la lista se amplió y completó con nuevas lesiones en 2019[6], que cubren todo el espectro de lesiones conocidas y displasias «no convencionales», todavía no reconocidas como tales en la 5ª edición de la Clasificación de Tumores Digestivos de la Organización Mundial de la Salud[7].

**Bibliografía**


1. Riddell RH, Goldman H, Ransohoff DF, y cols. Dysplasia in inflammatory bowel disease: standardized classification with provisional clinical applications. Hum Pathol. 1983;14: 931-68. doi: 10.1016/s0046-8177(83)80175-0. PMID: 6629368.
2. Blackstone MO, Riddell RH, Rogers BH, Levin B. Dysplasia-associated lesion or mass (DALM) detected by colonoscopy in long-standing ulcerative colitis: an indication for colectomy. Gastroenterology. 1981; 80: 366-74. PMID: 7450425.
3. Laine L, Kaltenbach T, Barkun A, y cols. SCENIC international consensus statement on surveillance and management of dysplasia in inflammatory bowel disease. Gastroenterology. 2015;148: 639–51.

4. Participants in the Paris Workshop The Paris endoscopic classification of superficial neoplastic lesions: esophagus, stomach, and colon: November 30 to December 1, 2002. Gastrointest Endosc. 2003; 58 (6 Suppl): S3-43. doi: 10.1016/s0016-5107(03)02159-x. PMID: 14652541.

5. Harpaz N, Goldblum JR, Shepherd N, y cols. Novel classification of dysplasia in IBD. Mod. Pathol. 2017; 30: 174A.

6. Choi WT, Yozu M, Miller GC, y cols. Nonconventional dysplasia in patients with inflammatory bowel disease and colorectal carcinoma: a multicenter clinicopathologic study. Mod Pathol. 2020;33: 933-43. doi: 10.1038/s41379-019-0419-1. PMID: 31822800.

7. Odze RD, Harpaz N. Inflammatory bowel disease-associated dysplasia of the colorectum. WHO Classification of Tumors. Digestive System Tumors. 5th Edition. WHO Classification of Tumors Editorial Board. International research Agency on Cancer, 2019. 174-76.

# Displasia del tracto gastrointestinal más allá de los pólipos:
# Displasia intestinal en la EII: Tipos de displasia no convencional. Criterios diagnósticos

**Yolanda Rodríguez Gil**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid*

En el año 1925 Crohn y Rosenberg publicaron un caso de carcinoma rectal en una colitis ulcerosa complicada y sugirieron por primera vez el desarrollo de neoplasias como secuela de la enfermedad.

## INTRODUCCIÓN

La displasia convencional (intestinal) (DC) es un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer en la enfermedad inflamatoria intestinal (EII)[1]. La probabilidad de desarrollo de carcinoma colorrectal (CCR) en pacientes con EII oscila entre el 0,2-2 % a los 10 años, el 1,4-8 % a los 20 años y el 3,1 -18 % a los 30 años[2].

En el estudio de las lesiones que aumentan este riesgo, recientemente se han descrito varias distintas de la displasia convencional (DNC), con una concordancia en la localización del CCR y las lesiones de DNC de hasta un 68 % [4] o incluso DNC adyacente al CCR, en grado similar a la displasia convencional[5]. En una serie de 54 pacientes con CCR y EII Choi y cols. encontraron DNC en el 45 % de los casos asociada o no a DC[5]. Algunos autores han descrito que la DNC se asocia a más riesgo de carcinoma (38 %) que la DC (19 %)[6].

Además, en estas lesiones se ha detectado la presencia de mutaciones consideradas características del carcinoma colorrectal como pérdida de MGMT, además de las mutaciones en KRAS y BRAF[3].

## TIPOS DE DISPLASIA NO CONVENCIONAL

Hasta el momento se describen 7 subtipos de DNC (Tabla 1) y el llamado «cambio epitelial serrado» que muestra patrón serrado sin displasia, diferente de un pólipo hiperplásico, de la lesión serrada sésil y de las otras lesiones con displasia serrada conocidas. Además de estos tipos, existen formas combinadas o mixtas. Los principales subtipos son:

- **Displasia hipermucinosa**: incluye la displasia hipermucinosa por incremento de células caliciformes y la llamada por otros autores «**displasia gástrica»** por su semejanza con las

células gástricas foveolares[7]. Esta última también presenta aspecto mucinoso, con pocas células caliciformes entre las células mucinosas. La arquitectura es vellosa, tubulovellosa o incluso serrada[7].

- **Displasia de criptas**: anteriormente llamada «displasia terminal» o displasia precoz o inicial «early»por otros autores o **displasia con maduración terminal** [7].
- **Displasia con pérdida de células caliciformes** (también llamada eosinofílica, por otros autores).
- **Displasia con incremento de células de Paneth**
- **Displasia serrada (3 subtipos):**
  - Displasia similar a lesión serrada sesil (LSS-L)
  - Similar a adenoma serrado tradicional (AST-L)
  - Displasia serrada que no cumple criterios de LSS o AST
- **Lesiones mixtas** (hipermucinosa-intestinal u otras)
- **Cambio epitelial serrado** (sin displasia)

Algunos autores han intentado agrupar las displasias en:

**a) subtipo intestinal,** que incluye la displasia convencional de tipo adenoma tubular-tubulovellos-velloso; la variante rica en células de Paneth; la displasia de criptas o con maduración distal; los subtipos de displasias serradas; y la hipermucinoso con células caliciformes)

**b) subtipo gástrico**, equivalente a la variante hipermucinosa de tipo mucosa foveolar

**c) mixtas**, que pueden combinar dos o más tipos morfológicos. Esta variante es más frecuente en lesiones grandes y suele combinar displasia intestinal de tipo adenomatoso con displasia serrada, aunque pueden existir combinaciones de tipo hipermucinoso

**d) no clasificable**.

Se ha tratado de validar esta clasificación en un estudio de concordancia interobservador, en el que participaron Ozde y Riddell, con resultados subóptimos, con concordancias de solo el 0,54 para la displasia de tipo gástrico, con lo que no parece que sea implantable por el momento [(7)].

A continuación, se describen los principales rasgos morfológicos de las distintas variantes de DNC.

**Displasia hipermucinosa (de células caliciformes y de tipo gástrico o foveolar)**

Corresponde al 2 % de las lesiones de displasia en EII, en su definición por Choi y cols[6]. La mayoría de los pacientes tiene una larga evolución (media de 21- 23 años), es más frecuente en colitis ulcerosa (CU), (85 % de los casos) y más aún si hay antecedentes de colangitis esclerosante (CS) asociada a CU. Es más frecuente en colon izquierdo [7]

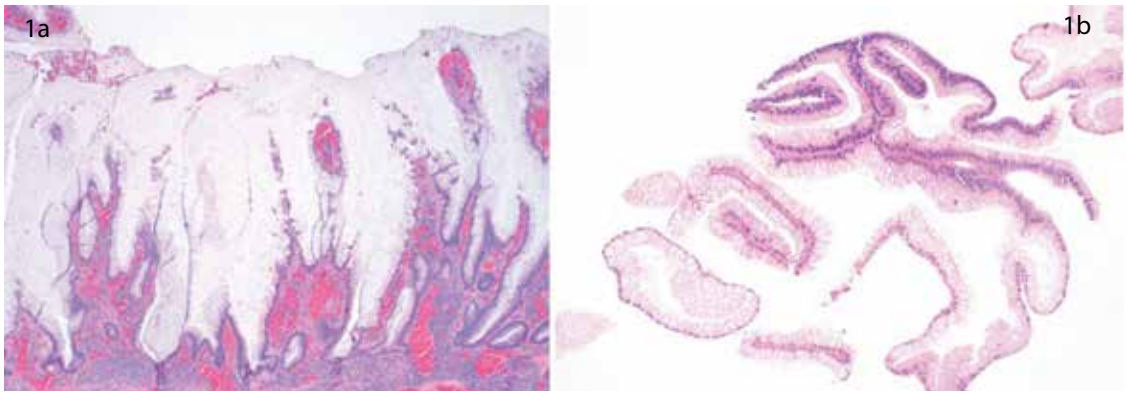
La presentación macroscópica más habitual es una lesión sobrelevada (52 % visible vs 48 % invisible), con un tamaño medio de 2,1-2,5 cm[8]. El aspecto es tubulovelloso o velloso. Las células son elongadas y claras, con cambio hipermucinoso que debe afectar más del 50 % de la lesión [6,7]. Se puede observar en la porción profunda hacia la base de las criptas, pero el epitelio madura hacia la superficie de forma «mucinosa» y pierde la atipia nuclear. Solo el 29 % tiene displasia de alto grado identificable. Se puede presentar mezclada con displasia convencional o con otras formas de DNC como el cambio epitelial serrado (Figura 1a-1b).

En los casos dudosos, superficiales se puede utilizar el término «cambio hipermucinoso o «epitelio hipermucinoso» para describir estos cambios y sugerir repetición de la biopsia en 3-6 meses.

En cuanto a las alteraciones moleculares, Andersen y cols. encontraron más frecuencia de mutaciones de KRAS en la displasia hipermucinosa que en la displasia convencional de bajo grado[10]. Además, se ha descrito que la frecuencia de aneuploidías es similar en la DNC -hipermucinosa y en las displasias invisibles y superior a las de las displasia visibles de bajo grado[6]. Todo esto indica que, aunque

no se observen claros signos de displasia de alto grado, las características morfológicas y la evolución la hacen parecida a una lesión de bajo grado, pero de alto riesgo de evolución a carcinoma. Las vías de carcinogénesis implicadas requieren estudio de series más largas, pero hasta el momento parecen estar implicadas la inestabilidad cromosómica, la aneuploidía y los genes *TP53* y KRAS [9].

**Figura 1a.** La displasia hipermucinosa muestra una lesión con leve atipia y presencia de cambio hipermucinoso en las células **Figura 1b.** Las biopsias superficiales de una lesión hipermucinosa muestran escasa atipia nuclear, más marcada en zonas profundas de la cripta y diferenciación hipermucinosa en superficie, que debe alertar al patólogo (9).




El grupo de Harpaz reserva el término cambio hipermucinoso para describir el aumento de células caliciformes y recomienda llamar a la displasia de células altas con una vacuola «displasia gástrica» por su similitud con el epitelio foveolar. Por el momento no hay suficientes estudios pronósticos sobre la displasia gástrica aislada y su riesgo se ha definido mezclado con DNC hipermucinosa con células caliciformes. En el futuro, podría ser de utilidad separar DNC hipermucinosa en «tipo células caliciformes «y «tipo gástrico» para determinar sus diferencias pronósticas, tal como proponen el grupo de Harpaz y Ozde[7].

**Displasia de criptas**

Representa aproximadamente el 4 % de todas las displasias en pacientes con EII (Tabla 1). Pero esta frecuencia puede estar infraestimada dada la dificultad de su reconocimiento y la previa clasificación como «cambio indeterminado-indefinido para displasia.

Se asocia más a CU de larga evolución (14-15 años) y es más frecuente en colon izquierdo[9]. El endoscopista puede identificar un «área de aspecto inflamatorio, edema, eritema, atrofia, palidez, cicatriz, friabilidad». Más de la mitad de las lesiones ocurren de forma aislada y no se identifica displasia convencional en áreas adyacentes.

Se caracteriza por un área morfológicamente diferente, con núcleos hipercromáticos y amontonados, que pueden presentar cierto agrandamiento o elongación, angulación o irregularidad en su forma (Figura 3a-3b). Las alteraciones se limitan a las bases de las criptas, sin cambios en la superficie ni displasia arquitectural relevante. Podría haber algunas células focales con atipia más intensa o pérdida de polaridad de núcleos, pero siempre en la base de las criptas. Suele haber incremento del número de mitosis y no hay relación directa con un área de mayor inflamación afectando a esa zona que pudiera explicar los cambios (en cuyo caso podría tratarse de cambios reactivos y el diagnóstico no podría pasar de «indefinido para displasia»).

La concordancia entre patólogos para este subtipo es muy baja, por lo que en caso de duda puede diagnosticarse de «atipia limitada a las criptas» y solicitarse una nueva biopsia en 3-6 meses. Las

tinciones para p53, mib1 y la posible pérdida de SATB2 pueden ayudar a diferenciar cambios reactivos de una verdadera displasia de criptas [9,12].

El riesgo es similar al de la displasia hipermucinosa con alteraciones moleculares (aneuploidía) que la asemejan a una lesión de bajo grado, pero de alto riesgo [9,13].

**Figura 2a**. Displasia hipermucinosa con células caliciformes hipertróficas e hiperplásicas, atipia nuclear leve. **Figura 2b** displasia hipermucinosa con aspecto similar a la mucosa gástrica «foveolar».

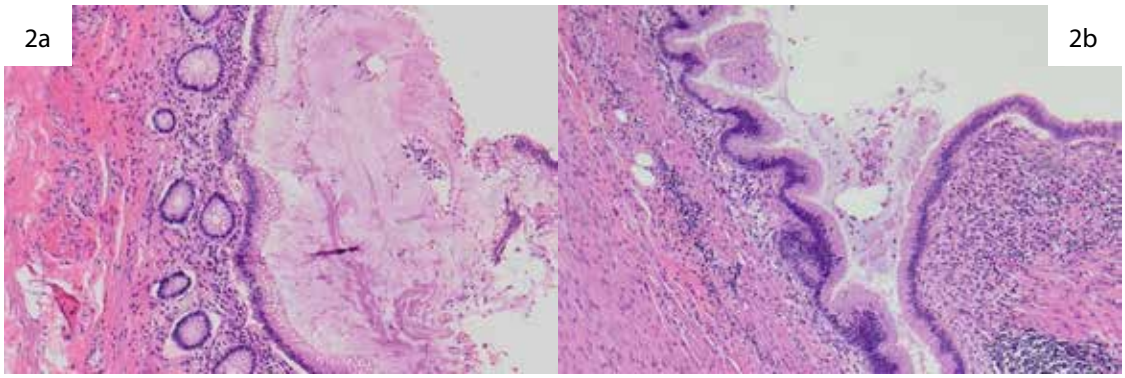
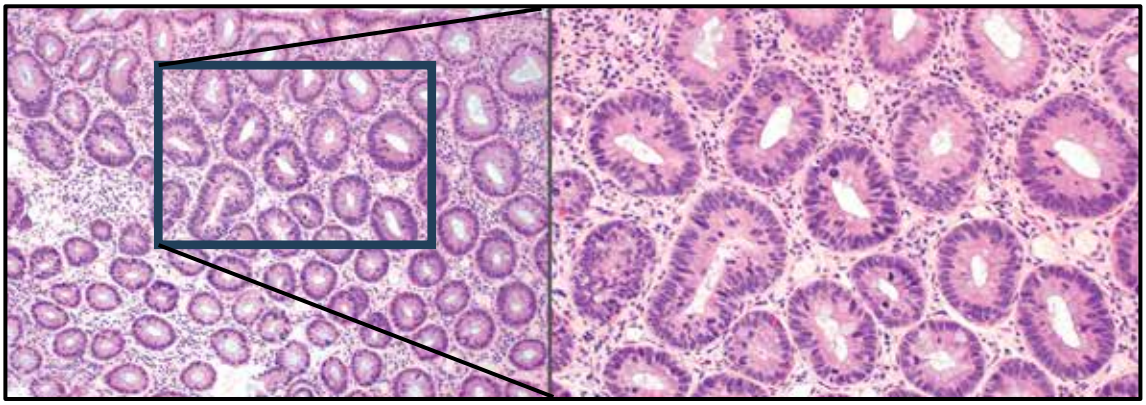



**Figura 3a**. Displasia de criptas. Presencia de hipercrormatismo y atipia en la base de las criptas, no visible en la parte superficial del epitelio. **Figura 3b**. aumento de las áreas con atipia. (Modificado de Choi et al. (14))



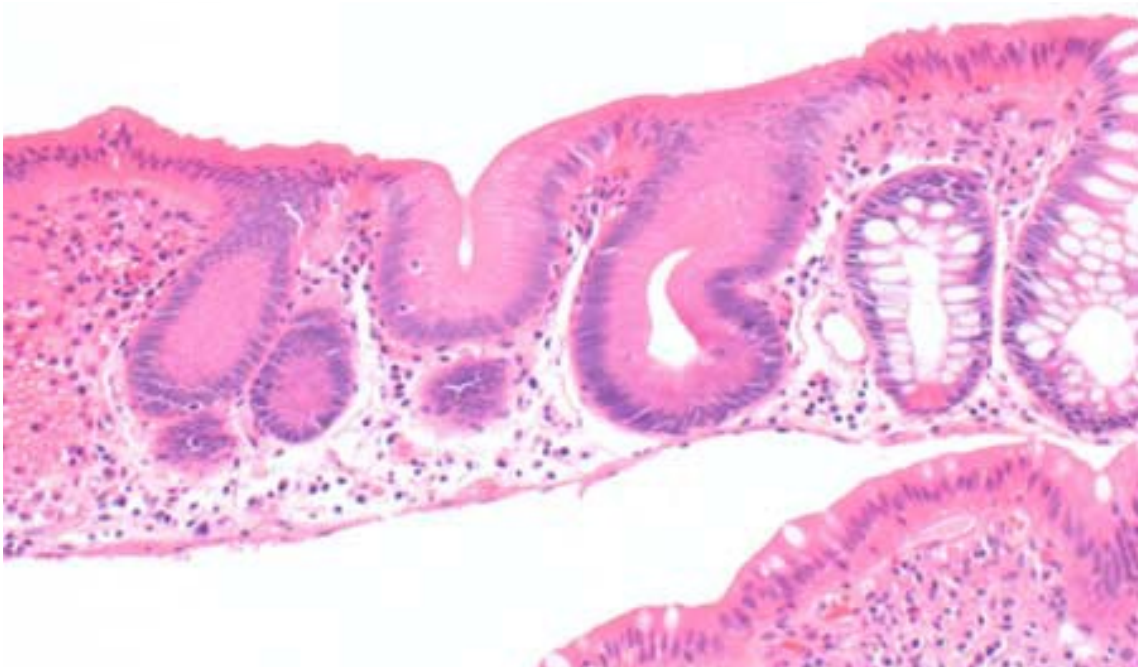
**Displasia con pérdida de células caliciformes**

La displasia con déficit o pérdida de células caliciformes es otra forma infrecuente de DNC, que constituye aproximadamente el 3 % de las todas las displasias encontradas en pacientes con EII[6]. Se define por epitelio con atipia y escasas células caliciformes y por tanto aspecto eosinófilo de los citoplasmas (Tabla 1). La arquitectura suele ser tubular (Figura 4). Los núcleos muestran atipia leve o intensa con displasia de bajo o alto grado (identificada al menos de forma focal en hasta un 40 % de casos[13]).

El aspecto macroscópico más frecuente es displasia plana o invisible (65 %), en los casos visibles suelen ser polipoides con una media de tamaño de 1,7-1,9 cm (Tabla 1)[14]. Se puede asociar a otras displasias. La mayoría de pacientes tiene EII de larga duración (media 16-17 años) y hasta el 14 % asocian además CS [6,14].

La presencia de displasia con DNC-déficit de caliciformes se asocia a mayor riesgo de desarrollar CCR, Choi y cols., publican en su serie que el 40 % de los casos con DNC-deficitaria de caliciformes, tenían CCR sincrónico o metacrónico [6]. Además a nivel molecular se detecta mayor número de casos de aneuploidías (25 %) en DNC -déficit de caliciformes de bajo grado, que en la displasia de bajo grado convencional polipoide (8-9 %)[6].La DNC-deficitaria de células caliciformes ha mostrado más porcentaje de mutaciones en PIK3CA (56 %), *TP53* (44 %), y KRAS (22 %), porcentajes similares a los del CCR[15].

**Figura 4**. La displasia con pérdida de células caliciformes, afecta tanto a la superficie epitelial como a la base de las criptas. Se observan citoplasmas intensamente eosinófilos que pueden tener secreción hacia la luz de las criptas puede ser de bajo grado, como en la imagen o alto grado[8].



**Displasia con incremento de células de Paneth**

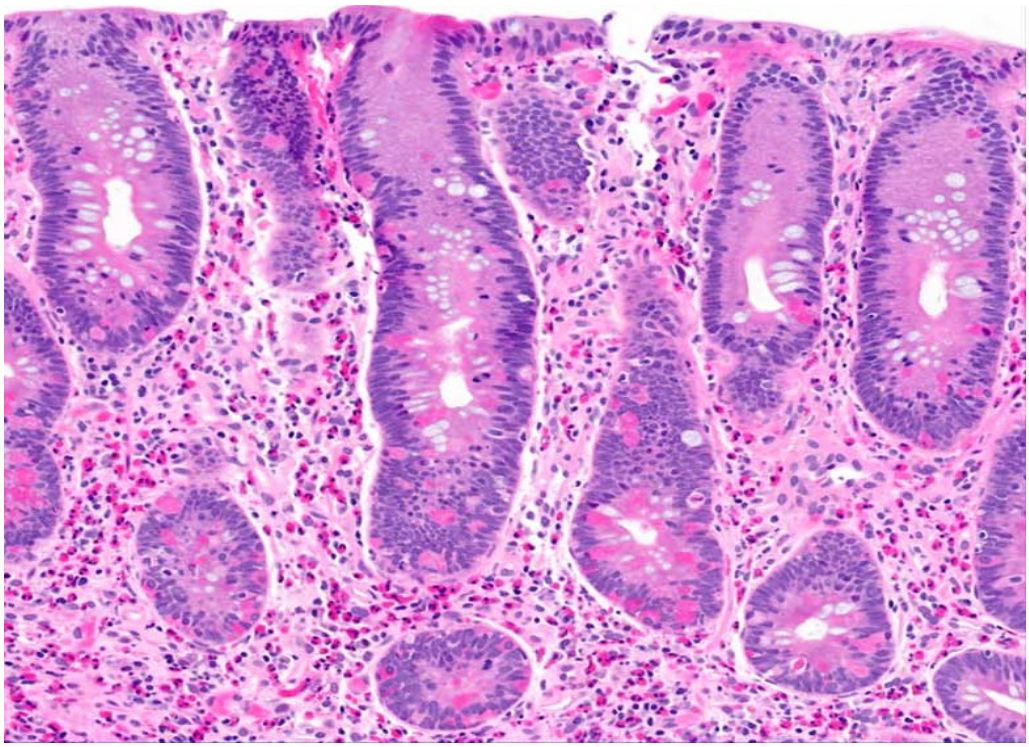
Se define como displasia asociada a un incremento de células de Paneth en al menos dos focos y con afectación de al menos a dos criptas contiguas[6]. Representa el 13 % de todas las displasias[6]. Aparece en la EII de larga evolución con una media de 17 años hasta el desarrollo, aunque no parece ser más frecuente en pacientes con EC, sí es más frecuente en CU. Se desarrolla más frecuentemente en colon derecho y en varones[9] a semejanza de los adenomas ricos en células de Paneth convencionales esporádicos.

Los rasgos morfológicos son como los de la displasia convencional o el adenoma tubular (Figura 5). Arquitecturalmente son más frecuentemente tubulares, con núcleos hipercromáticos alargados «como lapiceros», con atipia levey afectación de la superficie epitelial y la profundidad de criptas. Suelen tener pocas células caliciformes, pero no están totalmente ausentes.

Macroscópicamente suele ser visible, polipoide (70 %), con una media de tamaño de 1 cm.

Estas lesiones se asocian menos frecuentemente a carcinoma invasivo y su frecuencia de aneuploidías (12 %) es similar a las de la displasia de bajo grado visible o a los adenomas esporádicos convencionales[9], por lo que se consideran de bajo riesgo. En la cohorte de Choi de 58 casos de EII con CCR, solo un 11 % de los pacientes tuvo este tipo de DNC[5].

**Figura 5.** Displasia con abundantes células de Paneth. Se debe identificar un número significativo de células de Paneth en al menos dos criptas contiguas, en al menos dos focos con displasia. La morfología de los núcleos es indistinguible de la de los de la displasia convencional y pueden ser de alto o bajo grado[15].



**Displasia serrada (subtipos: similar a lesión serrada sesil (LSS-L), similar a adenoma serrado tradicional (AST-L) y displasia serrada no clasificable (DS-NOS)**

Las displasias serradas de tipo «similar a LSS» (LSS-L) y «similar a adenoma serrado tradicional» (AST-L) suelen ser visibles, de morfología polipoide sesil o pediculada, respectivamente. Su tamaño medio es 1,2 cm (Tabla 1). Comparten ambos las características morfológicas tanto en su arquitectura como en su celularidad con sus contrapartidas esporádicas[6] y también la frecuencia de su localización en colon derecho e izquierdo es similar a las de los esporádicos. A nivel molecular. se ha visto escasa frecuencia de aneuploidías y se asocian a la vía serrada de la carcinogénesis[6, 16,17].

Dentro de los subtipos de displasia serrada el más frecuente es AST-L, seguido de DS-NOS y menos frecuente la displasia LSS-L [5]. Todos pueden asociarse a displasia convencional u otro subtipo de DNC, pero para clasificarlo como serrado, el total de displasia con patrón serrado debe superar un 50 % de la lesión. Los criterios diagnósticos incluyen los de los de sus contrapartidas esporádicas (presencia de criptas dilatadas en su base, morfología en «T» o en «L», escasa atipia celular en los LSS-L ; y aspecto tubulovelloso, con luces estrellladas, patrón serrado con «penachos» en el epitelio de superficie y criptas ectópicas, con células de citoplasmas intensamente eosinófilos y núcleos claros, en los AST_L). La mayoría de autores excluyen la LSS sin displasia de la categoría de «displasia serrada tipo LSS-L». Por ahora se manejan de forma similar a su contrapartida no asociada a EII y asocian riesgo similar a la DC (lesiones serradas con displasia esporádicas).

Cuando el patrón arquitectural es serrado, existe displasia, pero no se encuentran los rasgos característicos de LSS o de AT, se clasifica como DS-NOS [5,6]. Todavía no se ha podido valorar bien el riesgo de asociación a carcinoma de la DS-NOS, pero en los otros dos subtipos es similar al de la displasia convencional[9].

**Cambio epitelial serrado (SEC)**

El cambio epitelial serrado (SEC) es un término controvertido, recientemente propuesto por algunos autores[17,18] que aparece en estudios antiguos como cambio «indefinido para displasia» o «cambio similar a hiperplasia» y ha sido considerado, ya en estudios antiguos una posible forma de displasia[19]. Se define como cambio serrado que no cumple criterios de lesión serrada sésil (LSS), pólipo hiperplásico (PH) o lesión con displasia de bajo grado de las bien tipificadas y que no tiene displasia visible morfológicamente en el sentido tradicional de atipia.

Se encuentra más frecuentemente en mucosa plana, aunque también puede corresponder a una lesión endoscópicamente visible (nodular, sobreelevada o polipoide sesil), indistinguible para el endoscopista de un adenoma convencional)[7].

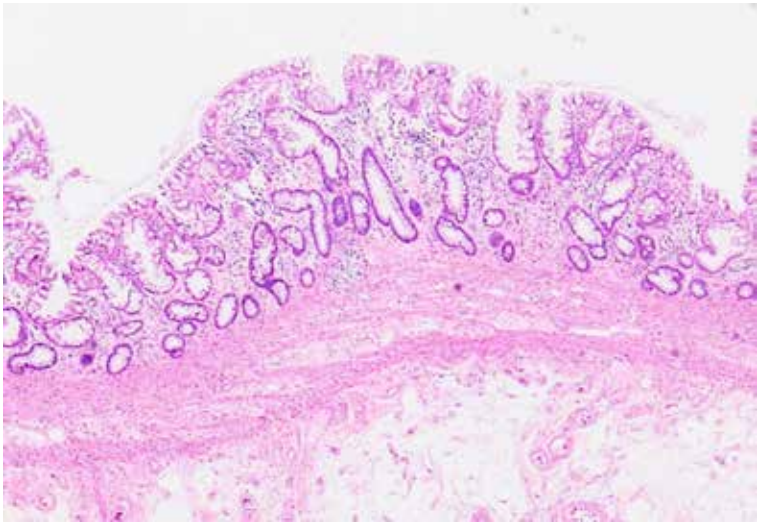
Se caracteriza microscópicamente, además de por epitelio serrado, por distorsión de la arquitectura sin los rasgos clásicos de la displasia. Esta alteración arquitectural marcada diferencia esta lesión de un pólipo hiperplásico. Las criptas pierden su orientación y dejan de estar perpendiculares a la muscular de la mucosa y de llegar hasta su proximidad. Son cortas y mal orientadas. Aparecen «penachos» y serraciones «irregulares» en el epitelio. Las células caliciformes aparecen hiperplásicas y se localizan también en la base de las criptas. Son células de citoplasma de vacuola grande, a diferencia de la mayoría de PH, que suelen ser del subtipo «microvesicular» y más evidentes en la superficie. Se parecen más a los PH del subtipo «célula caliciforme», de los que se diferencian por las criptas más cortas en SEC y porque los PH mantiene las criptas paralelas entre sí y perpendiculares a la muscular de la mucosa, llegando hasta ella en los cortes bien orientados. Además, presenta células hiperplásicas (amplio citoplasma) en toda la longitud de la cripta y no limitado a las capas superficiales como ocurre en los PH. No aparece atipia en los núcleos, aunque los citoplasmas pueden ser claros, vacuolados o más eosinófilos. No aparecen rasgos citológicos de displasia convencional de bajo grado. Aunque en su evolución puede asociarse a la aparición de displasia convencional en áreas adyacentes, incluso de displasia de alto grado o de carcinoma, para poder diagnosticar el SEC no se debe identificar displasia.

Se han descrito SEC multifocal (evidencia de SEC en más de un segmento del colon) y SEC focal.

El SEC se ha vinculado con mutaciones en *TP53*[18] detectadas usando NGS. Otras lesiones serradas como «similar a LSS» sin displasia estudiadas en la misma serie[20] no tenían mutaciones en *TP53*. Este dato favorece la hipótesis de que el SEC es un cambio precursor de neoplasia diferente de las otras lesiones serradas[21]. El estudio de Parian y cols. detectó más frecuencia de displasia en los pacientes con SEC, dado que hasta un 21 % de los pacientes con SEC tenían displasia o carcinoma sincrónico o metacrónico[4].En el estudio de Johnson se encontró un riesgo de neoplasia del 12 % en 1 año y30 % en 3 años en los pacientes con SEC, mientras que era del 4 y 9 % para los pacientes con EII sin SEC en el mismo tiempo de seguimiento[22].

Cuando se acepte la definición de SEC propuesta por el grupo de Montgomery y cols.[18], se requerirán futuros estudios para comprobar que la concordancia en el diagnóstico es aceptable y los datos moleculares y de asociación a carcinoma se corroboran en otras series. Por el momento no está incluido en las guías de seguimiento, pero sería recomendable mencionarlo en el diagnóstico, con el comentario que propone el grupo de Montgomery: «El cambio epitelial serrado se ha visto asociado a la EII de larga evolución. La mayor parte de autores recomienda considerarlo como un cambio -indefinido para displasia-».

**Figura 6.** Cambio epitelial serrado. No presenta displasia. El patrón es muy irregular lo que lo distingue de un pólipo hiperplásico convencional. Las células se asemejan a células caliciformes con hiperplasia, no se observa incremento de secreción de mucina.



**Relevancia clínica de la displasia no convencional**

Dado el alto riesgo de asociación a carcinoma de la DNC y su más frecuente presentación como lesiones invisibles o planas[14], se postula la necesidad de incluir en los protocolos de seguimiento de los pacientes con EII la realización de biopsias aleatorias y no solo biopsias dirigidas a lesiones visibles[11]. La segunda consecuencia es el cambio de paradigma en el diagnóstico de lesiones premalignas dado que el término «displasia» ya no se ajusta de forma exclusiva a los criterios tradicionales de displasia. Estas lesiones podrían ser confundidas con lesiones benignas o cicatrizales, siendo en realidad lesiones clonales con más frecuencia de aneuplodía y asociación a CCR que la displasia convencional. Algunos de los subtipos de DNC (DNC-hipermucinosa, DNC- de criptas, DNC-deficitaria en células caliciformes) son lesiones morfológicamente de bajo grado, pero tienen un comportamiento de alto riesgo[9].

Por otra parte, se ha visto que la DNC se asocia más frecuentemente a CCR pobremente diferenciado (36 % de pacientes con CCR pobremente diferenciado, tenían solo DNC),. El CCR con células en anillo de sello aparece en el 21 % de los pacientes con carcinoma y DNC, frente a un 5 % de los pacientes con CCR y DC[9].

En conclusión, la DNC tiene características clínicas, morfológicas, moleculares y de riesgo de asociación a CCR diferentes a la DC. La DNC asociada a EII debe diferenciarse y diagnosticarse para determinar las pautas de seguimiento o tratamiento individualizadas según el tipo de displasia y las características del paciente. Resulta esencial diferenciar los subtipos de mayor riesgo de asociación a carcinoma: las DNC-hipermucinosa, deficitaria en células caliciformes y de criptas, por su alto riesgo de malignización y separarlos de las displasias de tipo DNC con abundantes células de Paneth y serrada, que muestran riesgo similar a la displasia convencional[9]. Todas estas lesiones se consideran de alto riesgo cuando se asocian a displasia de alto grdo.

**TABLA1** Clasificación de los 7 subtipos de displasia no convencional y la entidad en estudio «cambio epitelial serrado» sin displasia*. (Modificada Choi et al[9,7,19])

| | **Displasia hipermucinosa (de caliciformes y gástrica)** | **Displasia de criptas** | **Displasia con incremento de células de Paneth** | **Displasia con pérdida de células caliciformes** |
|---|---|---|---|---|
| **Características morfológicas** | Células cilíndricas con citoplasmas claros llenos de mucina. Escasa atipia nuclear. Morfología tubular, vellosa o serrada.<br>Subtipos:<br>- «Células caliciformes-intestinal»<br>- «gástrica: tubular-vellos-serrada»23 | En la base de las criptas se observan núcleos elongados,u ovalados, amontonados,hipercomáticos y atípicos, solo en las bases,madurando en superficie. | Aumento de células de Paneth, visible en al menos dos criptas contiguas y en dos focos diferentes. | Completa o casi completa de células caliciformes (goblet deficient) |
| **Incidencia (%) las lesiones displásicas)** | 2 % | 4 % r | 13 % | 3 % |
| **Localización más frecuente** | Colon izquierdo | Colon izquierdo | Colon derecho | Similar en ambas localizaciones |
| **Asociación colangitis esclerosante (PSC)** | Común | Común | Rara | Común |
| **Apariencia endoscópica** | Frecuentemente visible | Más frecuente no visible | Más frecuente polipoide/visible | Frecuentemente invisible |
| **Tamaño medio lesiones visibles** | 2,1 -2,5 cm | No aplica | 1 cm | 1,7-1,9cm en visibles |
| **Histología arquitectural** | Tubulovelloso o velloso | Plano | Tubular | Tubular |
| **Riesgo neoplasia avanzada** | Superior a la DC | Superior a la DC | Similar a la DC | Superior a la DC |
| **Alteraciones moleculares** | Aneuploidía, KRAS, *TP53* | Aneuploidía, *TP53*, KRAS | Aneuploidía | Aneuploidía *TP53*, PIK3CA, KRAS |

| | **Lesión serrada sesil «similar-like» (S-LSS ó LSS-L)** | **«Similar-like» a adenoma tradicional (S-AST ó AST-L)** | **Displasia Serrada que no cumple criterios de LSS o AST.(DS-NOS)** | ***CAMBIO SERRADO SIN DISPLASIA (SEC)** |
|---|---|---|---|---|
| **Características morfológicas** | Dilatación y alaragamiento lateral de la base de las critas en bastón de hockey o en «T». Las células suelen tener citoplasma microvesicular con alguna caliciforme y se disponen formando penachos (patrón serrado). | Criptas ectópicas, citoplasma eosinófilo, atipia con núcleos elongados, de cromatina abierta y localizados en la porción central de los citoplasmas elongados. | Patrón arquitectural serrado y presencia de displasia serrada. NO cumple los criterios arquitecturales de la displasia asociada a LSS, ni las características del AST. Tiene atipia en las células. | Epitelio sin atipia, rico en células caliciformes, serraciones irregulares que abarcan desde la superficie a la profundidad de las criptas (a diferencia de los pólipos hiperplásicos).<br>Criptas irregulares, cortas, no llegan a la muscular de la mucosa, disposición no paralela. |
| **Incidencia (%) las lesiones displásicas)** | 1 % | 1 % | <1 % | 1 % |
| **Localización más frecuente** | Colon derecho | Colon izquiero | Desconocido | Similar en ambas localizaciones (para algunos autores izquierdo) |
| **Asociación colangitis esclerosante (PSC)** | Rara | Rara | Desconocida | Desconocida |
| **Apariencia endoscópica** | Más frecuente visible, polipoide | Más frecuente polipoide, visible | Más frecuente polipoide visible | Más frecuente invisible o plana mal delimitada (62 %) |
| **Tamaño medio lesiones visibles** | 1,2 cm | 1,2 cm | Desconocido | Desconocido |
| **Histología arquitectural** | Tubular | Tubulovelloso | | Plano, túbulos muy irregulares |
| **Riesgo neoplasia avanzada** | Similar a la DC | Similar a la DC | Desconocido | Desconocido (¿mayor?) |
| **Alteraciones moleculares** | *TP53*, BRAF (KRAS mutado mayor riesgo)[17] | Aneuploide KRAS (45 %), BRAF | Desconocidas | *TP53* |

**Bibliografía**


1. Rutter MD, Saunders BP, Wilkinson KH, y cols. Thirty-year analysis of a colonoscopic surveillance program for neoplasia in ulcerative colitis. Gastroenterology. 2006;130: 1030-8

2. Bernstein CN, Blanchard JF, Kliewer E y cols. Cancer risk in patients with inflammatory bowel disease: a population based study. Cancer 2001; 91: 854-62

3. Kamarádová K, Vošmiková H, Rozkošová K, Ryška A, Tachecí I, Laco J. Non-conventional mucosal lesions (serrated epithelial change, villous hypermucinous change) are frequent in patients with inflammatory bowel disease-results of molecular and immunohistochemical single institutional study. Virchows Arch. 2020; 476: 231-41. doi: 10.1007/s00428-019-02627

4. Parian A, Koh J, Limketkai BN, et al. Association between serrated epithelial changes and colorectal dysplasia in inflammatory bowel disease. Gastrointest Endosc. 2016; 84: 87-95.e1. doi: 10.1016/j.gie.2015.12.01Choi WT, Yozu M, Miller GC, y cols. Nonconventional dysplasia in patients with inflammatory bowel disease and colorectal carcinoma: a multicenter clinicopathologic study. Mod Pathol. 2020; 33: 933-43. Lee H, Rabinovitch PS, Mattis AN, Lauwers GY, Choi WT. Non-conventional dysplasia in inflammatory bowel disease is more frequently associated with advanced neoplasia and aneuploidy than conventional dysplasia. Histopathology. 2021; 78: 814-30.

5. Harpaz N, Goldblum JR, Shepherd NA, Riddell RH, Rubio CA, Vieth M, Wang HH, Odze RD. Colorectal dysplasia in chronic inflammatory bowel disease: a contemporary consensus classification and interobserver study. Hum Pathol. 2023; 138: 49-61.

6. Choi WT. Non-conventional dysplastic subtypes in inflammatory bowel disease: a review of their diagnostic characteristics and potential clinical implications. J Pathol Transl Med. 2021;55: 83-93.

7. Choi WT, Kővári BP, Lauwers GY. The Significance of Flat/Invisible Dysplasia and Nonconventional Dysplastic Subtypes in Inflammatory Bowel Disease: A Review of Their Morphologic, Clinicopathologic, and Molecular Characteristics. Adv Anat Pathol. 2022 ; 29: 15-24.

8. Andersen SN, Lovig T, Clausen OP, Bakka A, Fausa O, Rognum TO. Villous, hypermucinous mucosa in long standing ulcerative colitis shows high frequency of K-ras mutations. Gut. 1999; 45: 686-92.

9. Falco EC, Ribaldone DG, Canavese G. Hyper Mucinous Proliferations in the Mucosa of Patients with Inflammatory Bowel Disease: Histological Lesions with a Real Potential for Neoplastic Evolution? Diagnostics (Basel). 2024; 14: 499.

10. Ma C, Henn P, Miller C, Herbst C, Hartman DJ, Pai RK. Loss of SATB2 Expression Is a Biomarker of Inflammatory Bowel Disease-associated Colorectal Dysplasia and Adenocarcinoma. Am J Surg Pathol. 2019;43 : 1314-22.

11. Wen KW, Umetsu SE, Goldblum JR, Gill RM, Kim GE, Joseph NM, Rabinovitch PS, Kakar S, Lauwers GY, Choi WT. DNA flow cytometric and interobserver study of crypt cell atypia in inflammatory bowel disease. Histopathology. 2019 ; 75: 578-88.

12. Choi WT, Salomao M, Zhao L, y cols. Hypermucinous, Goblet Cell-Deficient and Crypt Cell Dysplasias in Inflammatory Bowel Disease are Often Associated with Flat/Invisible Endoscopic Appearance and Advanced Neoplasia on Follow-Up. J Crohns Colitis. 2022; 16: 98-108.

13. Gui X, Köbel M, Ferraz JG, y cols. Histological and molecular diversity and heterogeneity of precancerous lesions associated with inflammatory bowel diseases. J Clin Pathol. 2020; 73: 391-402.

14. Bahceci D, Wang D, Lauwers GY, y cols. The development of serrated epithelial change in ulcerative colitis is not significantly associated with increased histologic inflammation. Am J Surg Pathol. 2024; 48: 719–25.

15. Choi WT, Wen KW, Rabinovitch PS, y cols. DNA content analysis of colorectal serrated lesions detects an aneuploid subset of inflammatory bowel disease-associated serrated epithelial change and traditional serrated adenomas. Histopathology. 2018; 73: 464–72.

16. Waters KM, Singhi AD, Montgomery EA. Exploring the spectrum of serrated epithelium encountered in inflammatory bowel disease. Hum Pathol. 2023; 132: 126-34.

17. Kilgore SP, Sigel JE, Goldblum JR. Hyperplastic-like mucosal change in Crohn's disease: an unusual form of dysplasia? Mod Pathol. 2000; 13: 797-801.

18. Singhi AD, Waters KM, Makhoul EP, y cols. Targeted next-generation sequencing supports serrated epithelial change as an early precursor to inflammatory bowel disease-associated colorectal neoplasia. Hum Pathol. 2021; 112: 9-19.

19. Bahceci D, Alpert L, Storozuk T, y cols. Dysplasia Detected in Patients With Serrated Epithelial Change Is Frequently Associated With an Invisible or Flat Endoscopic Appearance, Nonconventional Dysplastic Features, and Advanced Neoplasia. Am J Surg Pathol. 2024; 48: 1326-34.

20. Johnson DH, Khanna S, Smyrk TC, Loftus EV Jr, Anderson KS, Mahoney DW, Ahlquist DA, Kisiel JB. Detection rate and outcome of colonic serrated epithelial changes in patients with ulcerative colitis or Crohn's colitis. Aliment Pharmacol Ther. 2014;39(: 1408-17.

21. Harpaz N, Itzkowitz SH. Pathology and Clinical Significance of Inflammatory Bowel Disease-Associated Colorectal Dysplastic Lesions. Gastroenterol Clin North Am. 2024;53: 133-54.

# Displasia del tracto gastrointestinal más allá de los pólipos:
# Vías de carcinogénesis en la displasia de la enfermedad inflamatoria intestinal

**Eva Musulén**[1,2]

1. *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitari General de Catalunya-Grupo QuironSalud, Sant Cugat del Vallès, Barcelona*
2. *Grupo de Epigenética del Cancer, Institut de Recerca contra la Leucèmia Josep Carreras (IJC), Badalona, Barcelona*

El desarrollo de un carcinoma colorrectal (CCR) en un paciente con enfermedad inflamatoria (EII) puede ocurrir a través de distintas vías de carcinogénesis:

- **Vía canónica o clásica**, caracterizada por la secuencia «displasia-adenoma-carcinoma» con mutaciones del gen APC en sus primeras fases que activa la vía de señalización Wnt y que origina la mayoría del CCR esporádico no ligado a síndromes de predisposición hereditaria[1].
- **Vía serrada**, donde la mutación de genes de la cascada de MAP cinasas, especialmente BRAF, y la metilación de islas CpG son los principales efectores del 30 % de los CCR que afectan predominantemente al colon derecho y muestran marcada inflamación crónica acompañante e inestabilidad de microsatélites2. Estudios recientes han demostrado que la vía serrada se origina a través de un proceso de «lesión-reparación» continuado que favorece la aparición de metaplasia gástrica como mecanismo de adaptación al estress inflamatorio crónico[3].
- **Vía inflamatoria**, inciada en la secuencia «inflamación crónica-displasia-cáncer» y caracterizada por alteraciones de *TP53* en las etapas más iniciales que contribuyen a la aparición de un campo de cancerización en el que ocurren las siguientes alteraciones genéticas[4].

En la EII, los factores que intervienen en la aparición de la displasia son diversos[5]:

- Factores genéticos propios del paciente que determinan la EII y el sistema inmunológico
- Factores ambientales que producen cambios en la microbiota intestinal (disbiosis de la microbiota)
- Factores dietéticos

Estos factores actúan de forma simultánea creando una situación de estress continuado en la mucosa del colon como resultado de los procesos de lesión-reparación inducidos por un estado de

inflamación crónica que favorecen la transformación del epitelio colónico en un campo de cancerización en el que se producen las alteraciones que originan las lesiones precursoras del CCR.

A diferencia de los CCR esporádicos, en el CCR asociado a la EII (CCR-EII) intervienen distintas alteraciones[6]:

- Escasa activación de la vía *Wnt*: no se identifican mutaciones en el gen *APC* con niveles disminuidos de HNF4α.
- Dos potentes reguladores negativos de la vía *Wnt,* como son *AXIN2* y *RNF43*, se hallan intensamente hipo-regulados, lo cual explicaría un mecanismo alternativo de activación de esta vía. Destacar que *AXIN2* se encuentra hipermetilado en las lesiones serradas esporádicas con displasia[7] y *RNF43* se ha asociado a la poliposis hiperplásica y a la vía serrada de carcinogénesis[8].
- Escasas mutaciones de *KRAS*.
- Mutaciones en el extremo 5'UTR del gen *TP53* lo que provoca la escasa expresión de la proteína en fases precoces del proceso de tumorogénesis.
- Ausencia del CCR tipo CMS2, caracterizado por la diferenciación epitelial con activación de la vía Wnt, disminución de *MYC* y elevada expresión de *EGFR* y *HNF4*.
- Aumento del CCR tipo CMS4 que muestra activación de las vías de señalización relacionadas con la transición epitelio mesénquima (TEM) como TGFβ, integrinas y prominente infiltración estromal. También elevada inflamación con predominio de linfocitos T CD4+ y células inflamatorias de la inmunidad innata, interleuquinas 23 y 17 y asociación con la localización en el colon izquierdo y elevada incidencia de recaídas a distancia y muerte.
- Elevados niveles de metilación del genoma con dos genes con patrón de metilación aberrante: *PIGR* y *OSMR*. *PIGR* tiene un papel mediador en el transporte de IgA e IgM a través del epitelio intestinal. En el CCR-EII muestra hipermetilación del promotor con expresión disminuída lo que puede contribuir a la disfunción de la barrera epitelial e incremento de los efectos de la inflamación. *OSMR* es el receptor de la citoquina oncoestatina M y se halla hipometilado, con ganancia cromosómica y marcada sobreexpresión en el CCR-EII. La sobreexpresión de *OSMR* se localiza en las células estromales. El aumento de expresión de *OSMR* caracteriza a pacientes que muestran una respuesta pobre a los bloqueadores de TNFα.

El proceso de lesión-reparación acerca la vía serrada de carcinogénesis a la vía inflamatoria que origina el CCR-EII. Recientemente hemos demostramos que en la mucosa colon con EII se produce un cambio metaplásico del epitelio de las criptas en los procesos de reepitelización, con la aparición de un epitelio gástrico de tipo foveolar que se caracteriza por la expresión de MUC5AC y la pérdida de CDX2 (Figura 1)[9].

Un proceso similar se produce en los procesos de reparación de la mucosa colónica en la población general tras de un episodio de isquemia[10]. Así pues, la metaplasia gástrica sería el primer fenómeno que se produce en los procesos de reparación en la mucosa colónica y constituye el sustrato en el que se inician dos vías de carcinogénesis del CCR, la vía serrada y la vía inflamatoria.

En el CCR-EII se observa un perfil de expresión caracterizado por la expresión de p53, falta de expresión de MUC5AC y de inestabilidad de microsatélites, que permite su diferenciación del CCR esporádico y del originado a través de la vía serrada[11] (Figuras 2 y 3).

**Figura 1.** Mucosa de colon adyacente a un CCR-EII. A) Mucosa colónica con inflamación, atrofia glandular y tejido de granulación. B) Marcada expresión de MUC5AC en el epitelio que reepiteliza el tejido de granulación y en parte de las glándulas irregulares. Modificada de Musulén y colaboradores[9].

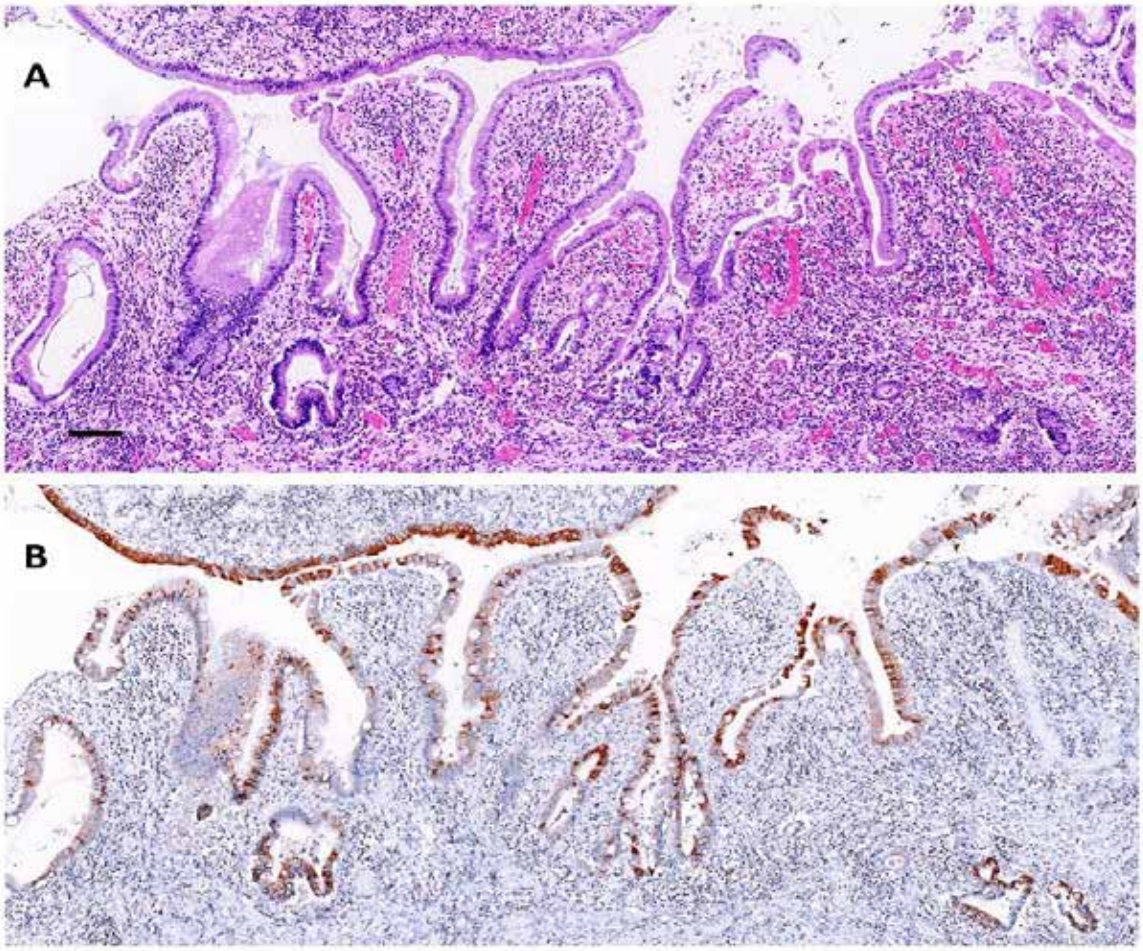



**Figura 2.** Mucosa colónica con cambios crónicos adyacente a un CCR-EII. A) Tinción de p53 con patrón *wild type* (p53 *wt-pattern*) en las glándulas del colon adyacentes a una neoplasia con sobreexpresión de p53 (p53 *mut-pattern*). B) MUC5AC fuertemente positiva en la mucosa del colon adyacente a una neoplasia negativa. Modificado de Gené y col.[11]

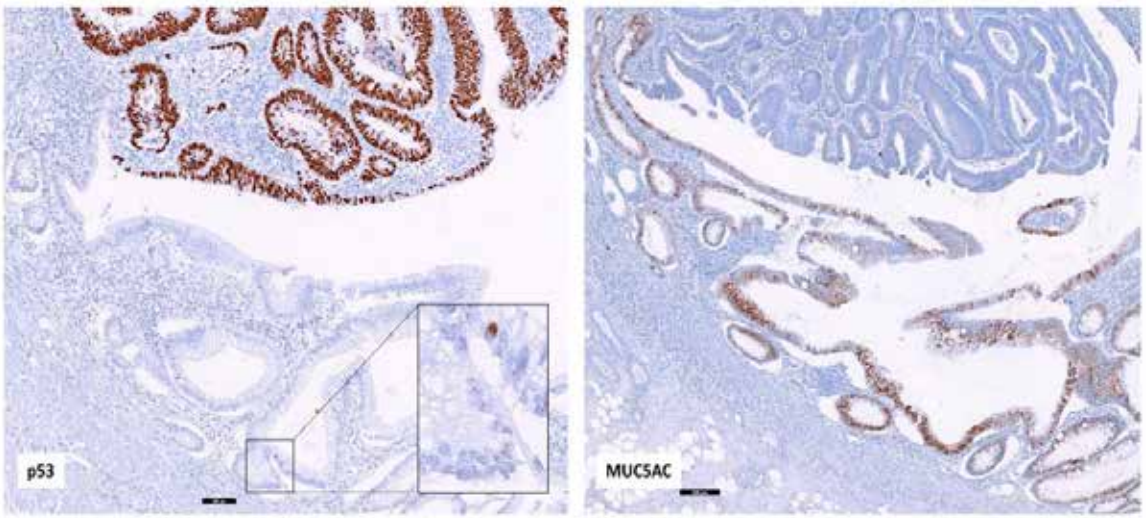
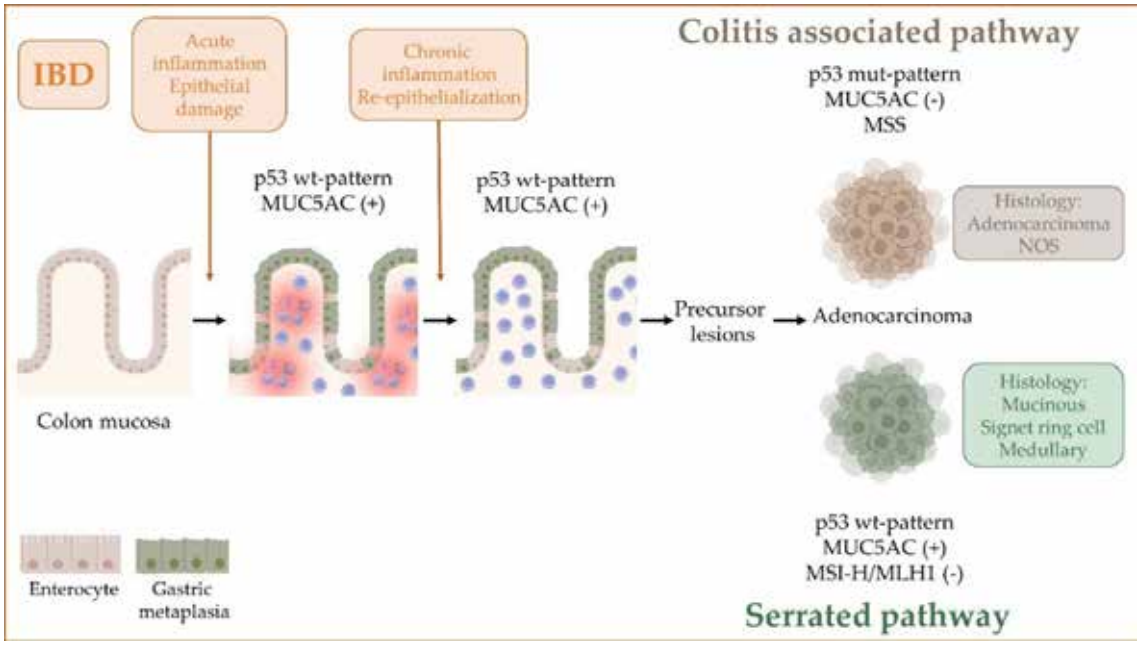


**Figura 3**. Vías de carcinogénesis del CCR-EII. La metaplasia gástrica aparece en la mucosa cólica inflamada como mecanismo adaptativo al estrés continuado, persiste en la mucosa con cambios crónicos y desaparece con la adquisición de mutaciones de p53. Los CCR-EII se caracterizan por alteraciones de p53, ausencia de expresión de MUC5AC y MSS, mientras que los CCR con MSI-H, expresión de MUC5AC y p53 *wt-pattern* podrían representar CCR esporádicos de la vía serrada que aparecen en un contexto de «inflamación crónica-displasia-cáncer» a partir de un epitelio metaplásico gástrico[11].




Corroboramos la presencia de expresión de MUC5AC en la displasia no convencional tipo sésil serrada-like (SSL-L) y de nuevo en la mucosa adjacente lesionada en un paciente con EII (Figura 4)[11].

Pero no fue posible establecer en base al partón inmnohistoquímico las displasias no convencionales que originan el CRC-EII debido a que no identificamos en ninguno de los diversos tipos la pérdida completa de expresión de MLH1, probablemente como resultado de la heterogeneidad de la hipermetilación que ocurre en las fases iniciales de la vía de carcinogénesis (Figura 5)[11].

En resumen, el CCR-EII tiene un patrón de expresión característico que permite diferenciarlo del CCR esporádico y serrado y con este último comparte su origen en la MG que aparece en la mucosa cólica en la EII como respuesta al estrés continuado provocado por la inflamación crónica.

**Figura 4.** Ilustraciones de una lesión serrada sésil y la mucosa adyacente con MUC5AC y CDX2 IHC. Imagen a bajo aumento de una lesión serrada sésil (círculo amarillo) y cambios inflamatorios en la mucosa adyacente (círculo rojo) (A). Epitelio serrado con displasia de bajo grado (LGD) que contiene una glándula con displasia de alto grado (HGD) con citoplasmas eosinofílicos, núcleos agrandados y pérdida de células caliciformes (B). Glándula con HGD ampliada (C) y epitelio con LGD ampliado (D). Tinción de MUC5AC de la lesión anterior (E) mostrando pérdida de expresión en la glándula con HGD (F) y presencia en el epitelio con LGD (G). Inmunotinción de CDX2 en la misma lesión (H) con tinción positiva en la glándula HGD (I) y tinción negativa o de menor intensidad en las células del epitelio serrado con LGD (J). Mucosa con inflamación aguda y crónica, erosión, cambios reactivos y atrofia de criptas (K), epitelio reepitelizado (L) y marcada expresión de MUC5AC (M) con tinción intensa en las mismas criptas con inflamación aguda (ampliadas en N y O). Inmunotinción de CDX2 en la misma mucosa inflamada (P) con pérdida de tinción en las mismas criptas con inflamación aguda y expresión de MUC5AC (ampliadas en Q y R)[11].

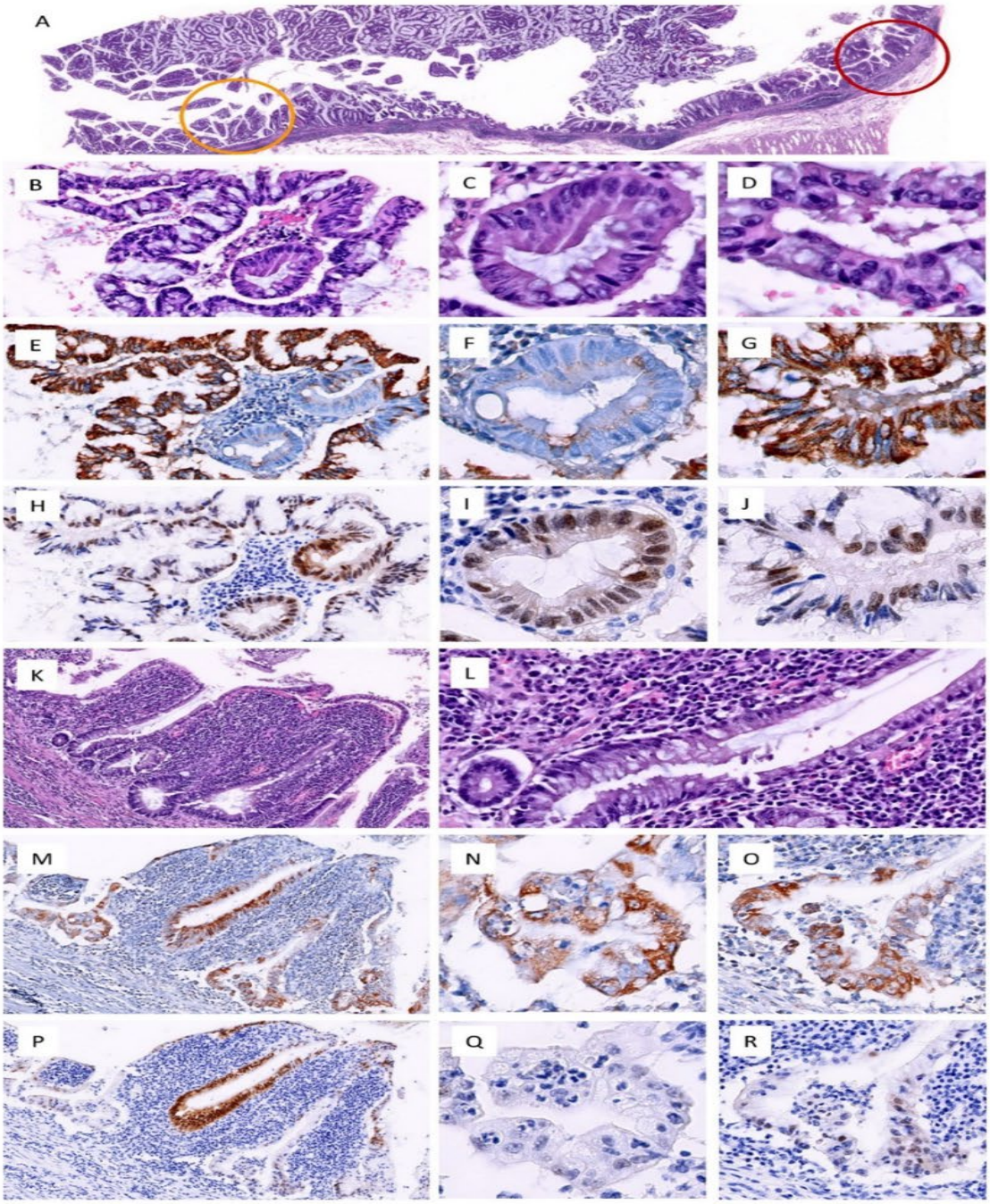
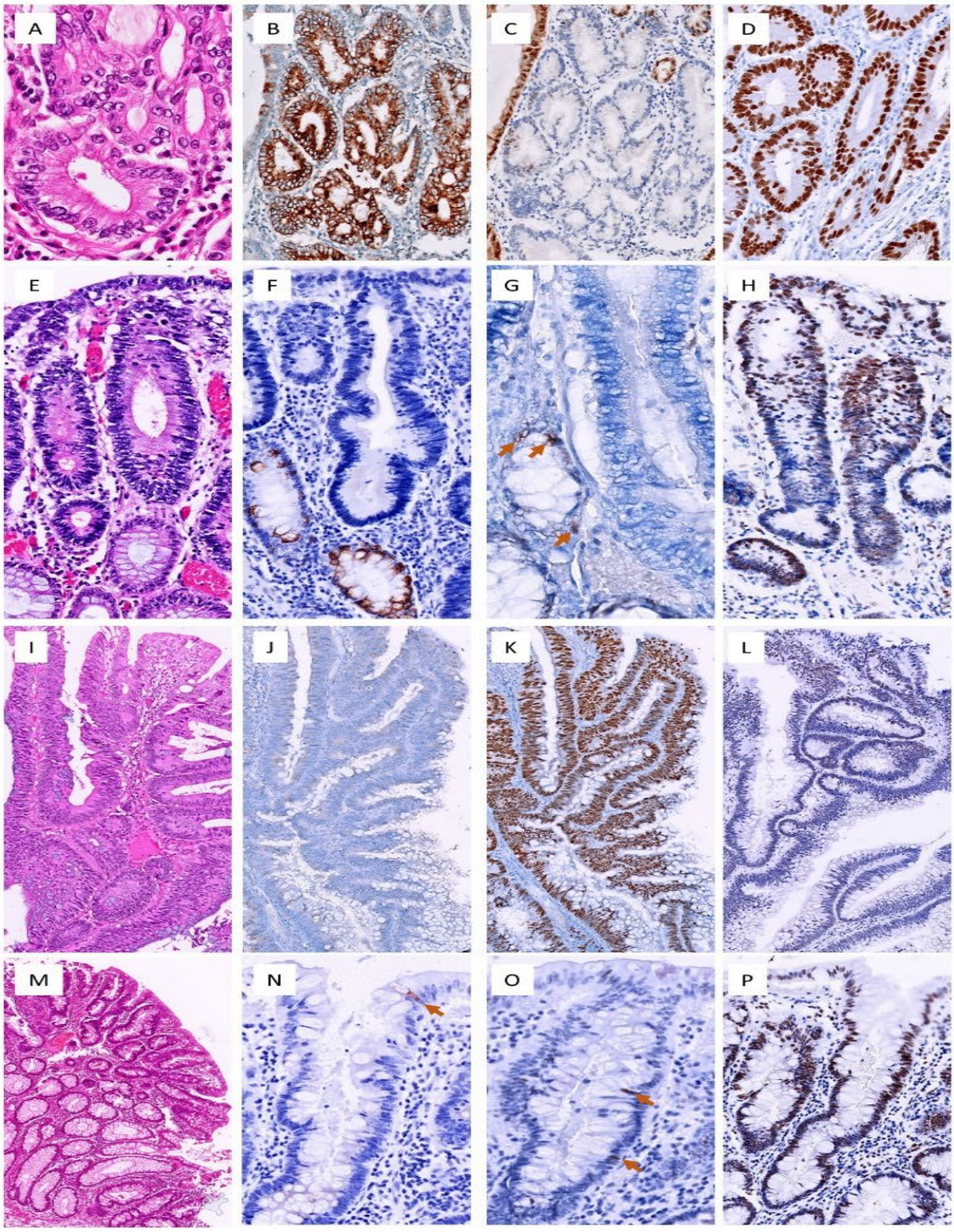


**Figura 5**. Ejemplos de inmunohistoquímica en displasia no convencional y convencional en la EII. Atipia/displasia de criptas (A) con expresión citoplasmática intensa y difusa de MUC5AC (B), pérdida de CDX2 (C) y sobreexpresión de p53 (D). Displasia con deficiencia de células caliciformes (GDC) (E) con pérdida de MUC5AC (nótese la tinción citoplasmática positiva en glándulas normales adyacentes) (F), patrón p53-mut (patrón nulo) con núcleos dispersos positivos en glándulas normales (flechas) como control positivo interno (G) y pérdida parcial de expresión de MLH1 (H). Adenoma serrado tradicional-like (I) sin expresión de MUC5AC (J), sobreexpresión de p53 (K) y pérdida parcial de expresión de MLH1 (L). Adenoma tubular-like (M) con MUC5AC negativo con presencia de una única célula positiva (flecha) en los epitelios superficiales (N), patrón p53-wt con núcleos positivos dispersos (flechas) (O) y expresión de MLH1 (P)[11].



**Bibliografía**


1. Fearon ER, Hamilton SR, Vogelstein B. Clonal analysis of human colorectal tumors. Science. 1987; 238: 193-7.
2. Crockett SD, Nagtegaal ID. Terminology, Molecular Features, Epidemiology, and Management of Serrated Colorectal Neoplasia. Gastroenterology. 2019, 157, 949-66.e4.
3. Chen B, Scurrah CR, McKinley ET y cols. Differential pre-malignant programs and microenvironment chart distinct paths to malignancy in human colorectal polyps. Cell. 2021, 184, 6262–6280.
4. Galandiuk S, Rodriguez-Justo M, Jeffery R, y cols. Field cancerization in the intestinal epithelium of patients with Crohn's ileocolitis. Gastroenterology. 2012;142: 855-64.e8.
5. Muller M, Hansmannel F, Arnone D, y cols. Genomic and molecular alterations in human inflammatory bowel disease-associated colorectal cancer. United European Gastroenterol J. 2020; 8: 675-84.
6. Rajamäki K, Taira A, Katainen R, y cols. Genetic and Epigenetic Characteristics of Inflammatory Bowel Disease-Associated Colorectal Cancer. Gastroenterology. 2021 ;161: 592-607.
7. Murakami T, Mitomi H, Saito T, y cols. Distinct WNT/β-catenin signaling activation in the serrated neoplasia pathway and the adenoma-carcinoma sequence of the colorectum. Mod Pathol. 2015;28: 146-58.
8. Yan HHN, Lai JCW, Ho SL, y cols. RNF43 germline and somatic mutation in serrated neoplasia pathway and its association with BRAF mutation. Gut. 2017; 66: 1645-56.
9. Musulen E, Gené M, Cuatrecasas M, y cols. Gastric metaplasia as a precursor of nonconventional dysplasia in inflammatory bowel disease. Hum Pathol. 2024;143: 50-61.
10. Cuatrecasas M, Lopez-Prades S, Rodrigo M, Saez de Gordoa K, Fuster C, Quing L, De La Ossa N, I. Archilla I, Musulen E. Healing process in small and large intestine occurs through MUC5AC expression and reveals gastric metaplasia differentiation. 36th European Congress of Pathology - Abstracts. Virchows Arch. 2024; 6: 1-546. 199 doi: 10.1007/s00428-024-03880-y.
11. Gené M, Cuatrecasas M, Amat I, y cols. Alterations in p53, Microsatellite Stability and Lack of MUC5AC Expression as Molecular Features of Colorectal Carcinoma Associated with Inflammatory Bowel Disease. Int J Mol Sci. 2023;24: 8655.

# Efectos gastrointestinales secundarios a inmunoterapia (Fármacos inhibidores de los puntos de control inmunitario «ICI»)

**Hernán Darío Quiceno Arias[1], María Teresa Rodrigo Calvo[2], Iván Archilla Sanz[2], Yolanda Rodríguez Gil[3], María Jesús Fernández-Aceñero[4]**

1. *Hospital Universitario Fundación Jiménez Diaz. Madrid*
2. *Hospital Clinic. Barcelona*
3. *Hospital Universitario 12 de octubre. Madrid*
4. *Hospital Clínico Universitario San Carlos. Madrid*

**INTRODUCCIÓN**

La inmunoterapia (IT) es el tratamiento con inhibidores del punto de control inmune (ICI), entre los que se incluyen los anticuerpos frente al antígeno 4 de los linfocitos T citotóxicos (anti-CTLA-4; ipilimumab), el receptor de muerte programada 1 (PD-1; nivolumab, pembrolizumab) y el ligando de PD-1 (PD-L1; atezolimumab, avelumab, durvalumab).

La IT ha mejorado el pronóstico de muchos pacientes con cáncer, pero estos fármacos se asocian a una relevante toxicidad, que puede afectar a muchos órganos, entre otros el tracto gastrointestinal (1). Esta descrita que la frecuencia de efectos adversos con síntomas gastrointestinales en general es muy alta (2), siendo la colitis grave el más frecuente (15-20 % de los pacientes tratados con terapia dual anti-CTLA-4 y anti-PD-L1), la cual aumenta el riesgo respecto a la monoterapia) (3). En general el tratamiento con ICI de tipo anti-CTLA-4 y el combinado con dos fármacos ICI (especialmente si uno es anti-CTLA-4) obtiene mejores respuestas antineoplásicas, aunque incrementa la frecuencia de los efectos adversos (4). De hecho, la toxicidad digestiva es la causa más frecuente de interrupción del tratamiento antineoplásico con ICI (3-25 %) (5).

Los efectos en el colon y en el intestino delgado han sido bien descritos, pero los gástricos se describen con menos frecuencia. En un estudio retrospectivo sobre 6.450 pacientes tratados con fármacos ICI solo 54 (0,8 %) tuvieron una gastritis confirmada anatomo-patológicamente y de ellos solo 0,2 % presentaron gastritis aislada sin afectación de otras regiones digestivas (6). Aunque en el estudio de Zhang sobre pacientes tratados con ICI en los que se había realizado una gastroscopia, las lesiones del tracto digestivo alto fueron más frecuentes que las de colon, esta mayor frecuencia parece explicarse por el método de selección de los pacientes, que incluyó sólo los pacientes sometidos a una endoscopia alta (7). En general la gastritis por inmunoterapia se considera menos frecuente que la enteritis por inmunoterapia (8).

El patólogo debe establecer un diagnóstico precoz de esta toxicidad y diferenciarla de otras causas para determinar la necesidad de suspender los ICI en los pacientes con síntomas digestivos (9). En este capítulo se analizan las alteraciones morfológicas asociadas a la toxicidad por ICI.

## ESÓFAGO

La esofagitis relacionada con la inmunoterapia puede manifestarse con disfagia meses después del tratamiento con nivolumab (10,11) o con náuseas y vómitos semanas tras la combinación de nivolumab e ipilimumab (12,13). Los hallazgos endoscópicos incluyen eritema, ulceración, edema y estenosis (14). Sin embargo, los datos actuales provienen principalmente de casos aislados, lo que sugiere que el esófago se afecta con escasa frecuencia. Los cambios esofágicos asociados con la inmunoterapia suelen ser inespecíficos y se superponen con otros procesos, por lo que es crucial correlacionar los hallazgos con la clínica.

A continuación, vamos a describir las principales lesiones esofágicas asociadas a ICI:

### Esofagitis con linfocitosis intraepitelial

La linfocitosis intraepitelial inducida por nivolumab parece ser la forma más común de esofagitis asociada con inmunoterapia. Este infiltrado linfocítico está compuesto principalmente por células T CD3+ y ocasionalmente algunas células B CD20+ (10,12). Se pueden identificar un número variable de queratinocitos apoptóticos. Este patrón puede semejar la esofagitis linfocítica y plantea un diagnóstico diferencial amplio. Por lo tanto, es importante ser cautelosos al atribuir este tipo de lesión a la inmunoterapia, ya que se debería confirmar, entre otros factores, la mejoría tras la suspensión del ICI. El diagnóstico diferencial abarca otras causas de linfocitosis esofágica, como la esofagitis por reflujo, la enfermedad de Crohn y trastornos autoinmunes o del tejido conjuntivo (15,17). En la esofagitis por reflujo, suelen observarse otros rasgos histológicos, como espongiosis, hiperplasia de células basales y un infiltrado inflamatorio mixto con neutrófilos y eosinófilos. Puede ser difícil distinguir la esofagitis inducida por inmunoterapia de la asociada a la enfermedad de Crohn, ya que ambas pueden presentar un patrón linfocítico, con o sin presencia de granulomas (16).

### Esofagitis ulcerosa

Diversos estudios han documentado la presencia de úlceras esofágicas inespecíficas vinculadas con el uso de inmunoterapia (13,18,19). En el ensayo clínico KEYNOTE-224, que evaluó el pembrolizumab en pacientes con carcinoma hepatocelular avanzado, se produjo una muerte en relación con esofagitis ulcerosa, la cual se atribuyó al tratamiento (20).

## ESTOMAGO

El tiempo de aparición de los síntomas desde el inicio de los ICI oscila entre 2 y 156 semanas (con una media de 6 meses) (21). Los cambios histológicos en los pacientes con gastropatía asociada a ICI afectan tanto a antro como a cuerpo y fundus, sin predilección zonal (5).

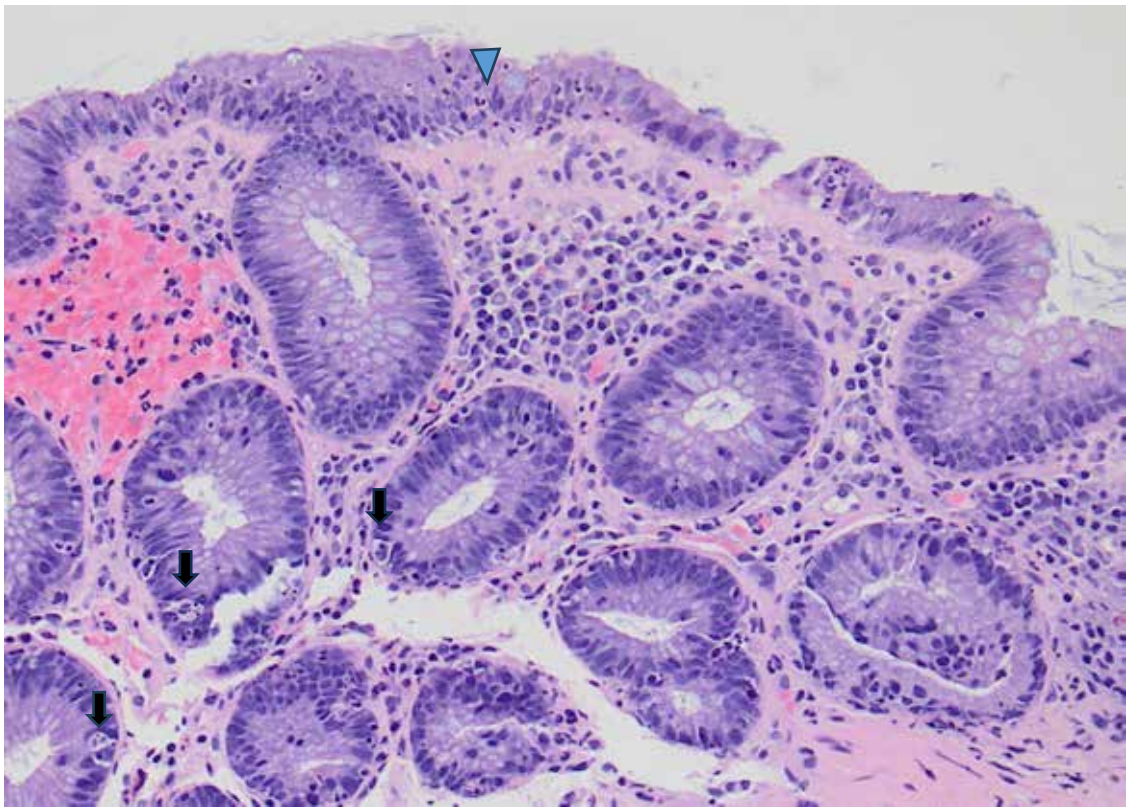
Los hallazgos endoscópicos gástricos son muy variables, desde un aspecto normal, eritema con o sin erosiones, úlceras, pólipos o engrosamiento de pliegues (5). No hay buena correlación entre los datos endoscópicos y los hallazgos histológicos. Los principales patrones de lesión asociada a los ICI a nivel gástrico son:

### Gastritis crónica con o sin actividad

Es el patrón más frecuente de gastropatía asociada a inmunoterapia. Se caracteriza por un infiltrado linfo-plasmocitario que expande la lámina propia (9,22). El infiltrado es leve en la mayoría de los casos (30 %). Algunos casos presentan neutrófilos en el infiltrado, que pueden ser abundantes con ocasionales microabscesos (13 %) (5,23).

Este patrón se puede acompañar de linfocitosis intraepitelial y cuerpos apoptóticos (Figura 1), estos dos hallazgos, si aparecen asociados a la gastritis linfo-plasmocitaria en un paciente en el adecuado contexto clínico y tras excluir infecciones, son muy sugestivos de gastritis por ICI.

**Figura 1.** Patrón de gastritis linfo-plasmocitaria con actividad neutrofílica (punta de flecha) y apoptosis (flechas).

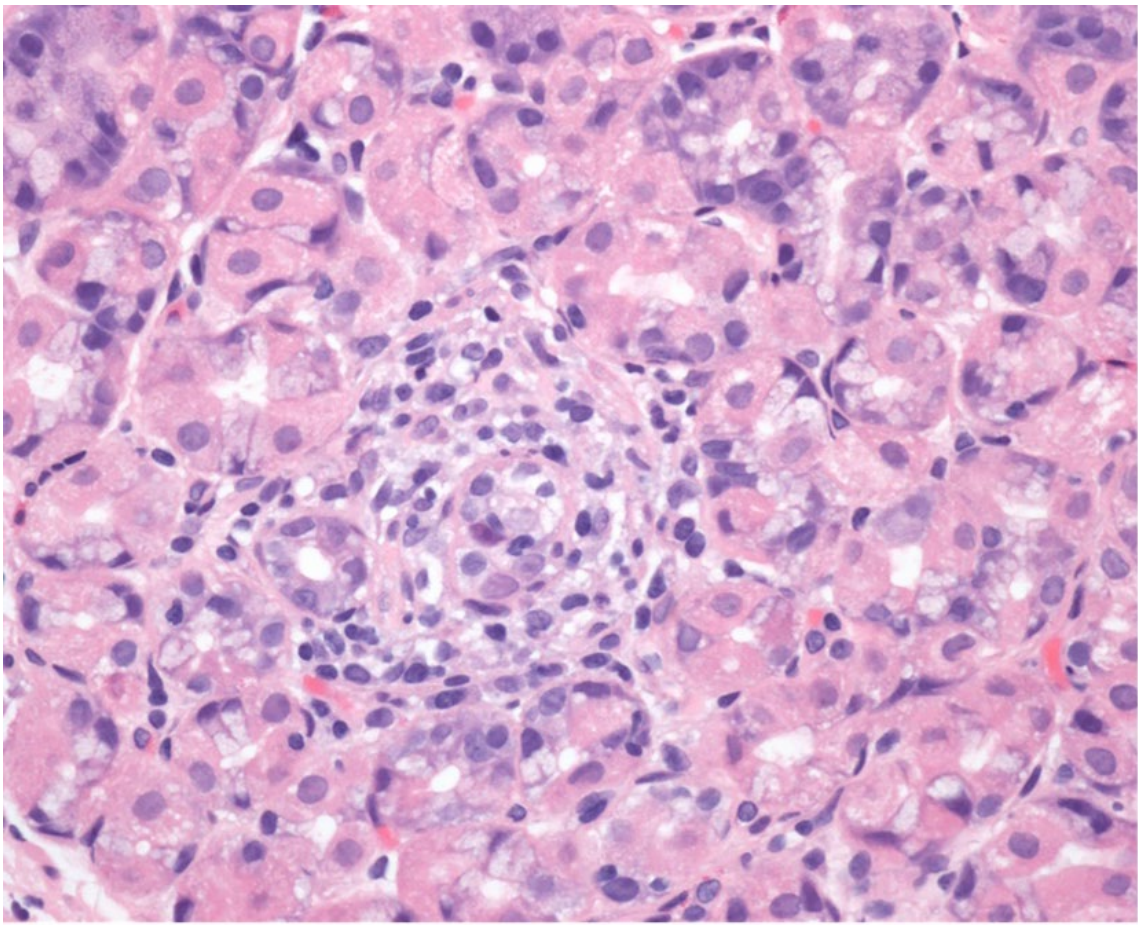


Los principales diagnósticos diferenciales son las gastritis infecciosas con actividad, por *Helicobacter pylori* y por CMV. Se deben buscar los microrganismos con hematoxilina-eosina, ayudándose de técnicas como Giemsa o inmunohistoquímica para aumentar la sensibilidad en casos negativos (5). Los rasgos morfológicos diferenciales de la gastritis por *Helicobacter* son menor densidad del infiltrado linfo-plasmocitario en la gastritis por ICI, menos agregados linfoides y menos células plasmáticas, mientras que la linfocitosis intraepitelial es más prominente en la gastritis por ICI (26).

**Inflamación peri-glandular**

Es un patrón frecuente (40 % de los casos con síntomas digestivos altos). Se caracteriza por la presencia de agregados, predominantemente de linfocitos, que rodean la base, istmo o cuello de las glándulas (5). Puede asociarse a un infiltrado difuso de tipo gastritis crónica (celularidad linfo-plasmocitaria) o incluso a granulomas no necrotizantes en un patrón que algunos autores han denominado «de tipo Crohn» (5). Característicamente la inflamación peri-glandular está compuesta casi de forma exclusiva por linfocitos, con escaso componente de histiocitos o células plasmáticas, lo que la diferencia de la «gastritis focalmente acentuada» característica de la enfermedad de Crohn. Se ha establecido el criterio de identificar al menos 5 focos de inflamación peri-glandular para determinar el diagnóstico de gastritis por ICI y este criterio muestra asociación con los síntomas digestivos secundarios a inmunoterapia (5)

Figura 2. Gastritis peri-glandular compuesta fundamentalmente por linfocitos (24).



**Granulomas no necrotizantes**

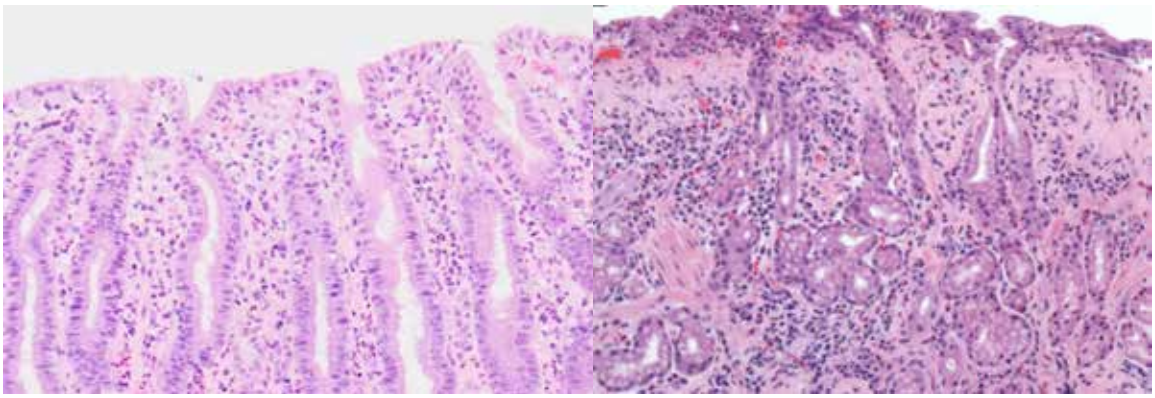
Se suelen asociar a otros patrones, como la inflamación peri-glandular, y llegan a aparecer en el 30 % de los pacientes tratados con ICI con síntomas digestivos altos (5). Un 2 % pueden presentar células gigantes. Es más frecuente en los pacientes que toman anti-CTLA-4 en monoterapia o combinado con anti-PD-L1.

El diagnostico diferencial obliga a excluir otras causas de granulomatosis, como causas sistémicas (sarcoidosis, enfermedad de Crohn conocida o desenmascarada por ICI, etc.) y causas infecciosas, por lo que en todos los casos deben hacerse técnicas adicionales para descartar infecciones (micobacterias, hongos, etc.) y correlacionar con los datos clínicos.

**Gastritis linfocítica**

El patrón «gastritis linfocítica» es menos frecuente (26). Se caracteriza por linfocitosis intraepitelial (más de 25 linfocitos por 100 células epiteliales gástricas) asociado a daño epitelial y no acompañado de inflamación activa. Los linfocitos son T (CD8+). La gastritis linfocítica (GL) es un patrón que se asocia también a enfermedad celiaca, infección por *H. pylori*, VIH, ingesta de antinflamatorios no esteroideos, colitis microscópica, etc. En los casos de gastritis por ICI la distribución afecta tanto al cuerpo como al antro, mientras que en la GL asociada a enfermedad celiaca las lesiones se desarrollan predominantemente en antro y en la GL asociada a *H. Pylori* se afecta más el cuerpo (26). En ocasiones también se observa apoptosis (27) y se han descrito casos aislados de patrón de gastritis colágena (24)

**Figura 4a.** Patrón de gastritis linfocítica. **Figura 4b.** Gastritis con linfocitosis intraepitelial que además muestra colágen subepitelial engrosado descrito en la «gastritis colágena» (24).



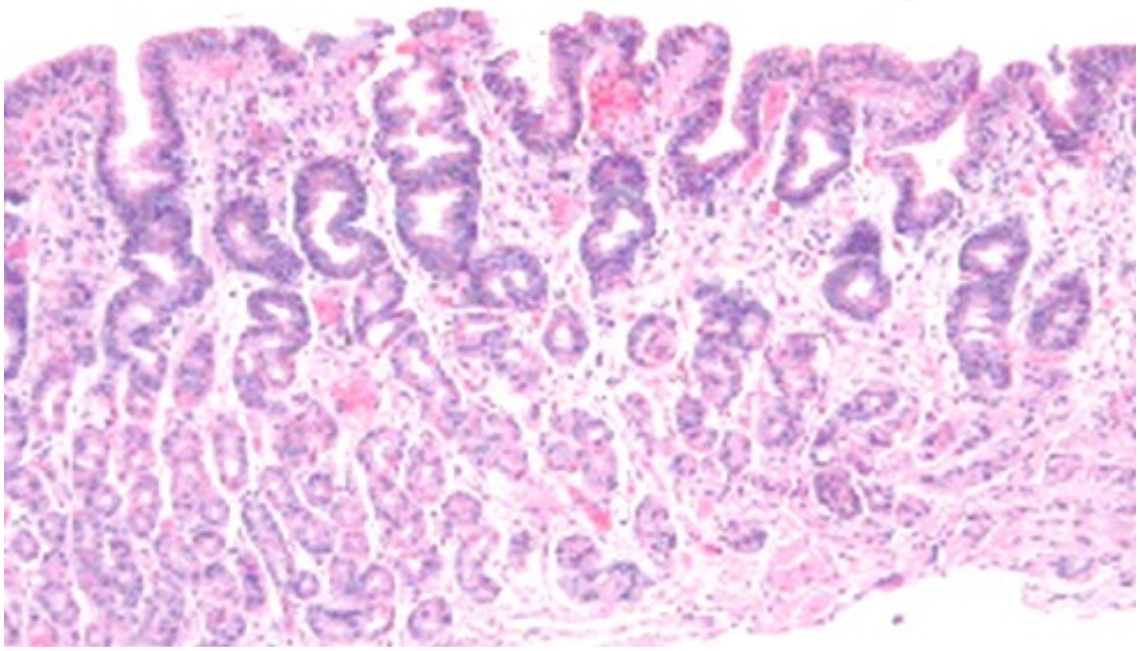
**Gastritis colágena**

Son muy escasos los casos publicados con este patrón de afectación. Muestra linfocitosis intraepitelial y engrosamiento colágeno subepitelial, que engloba pequeños capilares y células inflamatorias, similar al patrón de gastritis colágena esporádico (24). No existen casos suficientes para determinar las diferencias con la contrapartida esporádica, ni datos sobre la evolución.

**Gastropatía reactiva**

Patrón en el que el epitelio foveolar muestra depleción de mucina, foveolas elongadas con luces en forma de cresta de gallo o sacacorchos y proliferación de musculo liso en la lámina propia. La inflamación suele ser escasa, aunque puede asociarse a otros patrones (28)

**Figura 5.** Gastropatía reactiva en hasta un 28 % de casos en algunas series (28).



**Otros hallazgos**

Se han publicado casos aislados de gastritis hemorrágica (30) y fistulización con inflamación intensa de la mucosa gástrica (31) en relación con ICI.

**Lesiones gástricas y suspensión del tratamiento con ICI**

En general el tratamiento con ICI debe retirarse ante la aparición de efectos adversos de grado 2-3 o superior, aunque el beneficio clínico para los pacientes obliga a considerar la reintroducción de los fármacos cuando se consiga controlar o mejorar los síntomas con corticoides o incluso con inmunosupresores. En general se emplea un fármaco diferente. Cuando los pacientes desarrollan efectos adversos de grado 4, el tratamiento con ICI debe interrumpirse de forma permanente (29).

**Tabla 1.** Resumen de los hallazgos en gastropatía asociadas a inmunoterapia de tipo ICI (Modificado de Mitchel ¬ Karamchandani) (24)

| Patrón de lesión | Rasgos morfológicos | Diagnósticos diferenciales | Puntos clave | Frecuencia | Fármacos |
|---|---|---|---|---|---|
| **Gastritis crónica con o sin actividad de neutrófilos** | Expansión e lámina propia por linfocitos y en menor grado plasmáticas<br>ACTIVOS: linfocitos permeando el epitelio y formando microabscesos<br>+/- apoptosis<br>+/- linfocitosis intraepitelial<br>+/- granulomas | Infecciones: CMV, H pylori, Epstein Barr (obligado excluir)<br>Gastritis crónica leve no específica | Más frecuente que asocie apoptosis y linfocitosis intraeptelial.<br>Menos plasmáticas que H pylori y menos densidad de inflamación. | Patrón más común | Frecuente con antiPDL1 (Nivolimumab, Pembrolizumab) e Ipilimumab (antiCTLA4) en combinación con antiPDL1 |
| **Inflamación periglandular** | Infiltrado de linfocitos rodeando e invadiendo base, cuello o istmo de glándulas<br>+/- apoptosis<br>+/- linfocitosis intraepitelial<br>+/- granulomas | Gastritis focalmente acentuada típica de la enfermedad de Crohn | La inflamación periglandular en gastritis-ICI es de predominio linfocitario, con raramente histiocitos y pocas plasmáticas | Segundo en frecuencia<br>Puede aparecer aislado o con otra inflamación | Frecuente con antiPDL1 (Nivolimumab, Pembrolizumab) e Ipilimumab (antiCTLA4) en combinación con antiPDL1 |
| **Granulomas** | Aparecen granulomas no necrotizantes que no se asocian a ruptura glandular | Infecciones (micobacterias, hongos, etc.)<br>Crohn<br>Sarcoidosis | Realizar técnicas para descartar infección<br>Seriar para ver si hay relación del granuloma con rotura de criptas, cuerpo extraño etc. | Es menos frecuente.<br>Se asocia a inflamación periglandular simulando EII | Mas frecuente con antiCTLA4 o combinaciones (ipilimumab) |
| **Gastritis linfocitaria** | Linfocitosis intraepitelial (más de 25 linfocitos en 100 células epiteliales) y daño en el epitelio. Sin inflamación activa | Celiaca<br>De Novo gastritis linfocítica idiopática<br>Gastritis post-H pylori | Se localiza más en antro la celiaca de Novo y presenta anticuerpos antiTG o gliadina<br>Afecta a antro y cuerpo en gastritis-ICI<br>Se localiza más en cuerpo la gastritis post-H pylori | Poco frecuente.<br>Casos aislados además tenían patrón de gastritis colágena. | Más frecuente con antiCTLA4 (Ipilimumab) |
| **Gastropatía reactiva** | Pérdida de mucina en el epitelio. Aspecto regenerativo. Elongación de foveolas. Hiperplasia fibromuscular de lámina propia. | Secundaria a reflujo biliar, otros fármacos como AINES | Descartar reflujo, buscar datos como apoptosis o linfocitosis intraeptelial asociados, más frecuentes en Gastritis-ICI. Comprobar lista de fármacos para excluir otros causantes potenciales | Frecuente (patrón predominante hasta en 33 %) (28) | Anti PDL1 (Pembrolizumab, Nivolimumab) combinados con antiCTLA4 |

## DUODENO E ILEON TERMINAL

Cerca del 40 % de las biopsias duodenales obtenidas por sospecha clínica de afectación gastrointestinal inmunomediada presentan evidencia histológica de daño relacionado con inmunoterapia (9). Los principales hallazgos endoscópicos descritos incluyen eritema de la mucosa, erosiones, ulceración, exudados blanquecinos, estenosis y aplanamiento mucoso, aunque en un elevado porcentaje de los casos no se identifican alteraciones en el estudio endoscópico. Igual que sucede en las lesiones gástricas, no existe una correlación clara entre el grado de afectación histológico y el aspecto endoscópico de la superficie mucosa (5). Los principales patrones de afectación histológica se resumen a continuación:

### Expansión mononuclear de la lámina propia

El patrón histológico más frecuente en las series descritas hasta la fecha se caracteriza por una expansión inequívoca de la lámina propia a expensas de un infiltrado de predominio linfoplasmocitario, en algunos casos con incremento de eosinófilos, que puede acompañarse también de linfocitosis intraepitelial parcheada y/o de actividad aguda neutrofílica (32). Es frecuente que exista cierto solapamiento entre este patrón histológico y el patrón de aplanamiento de vellosidades.

### Aplanamiento de las vellosidades

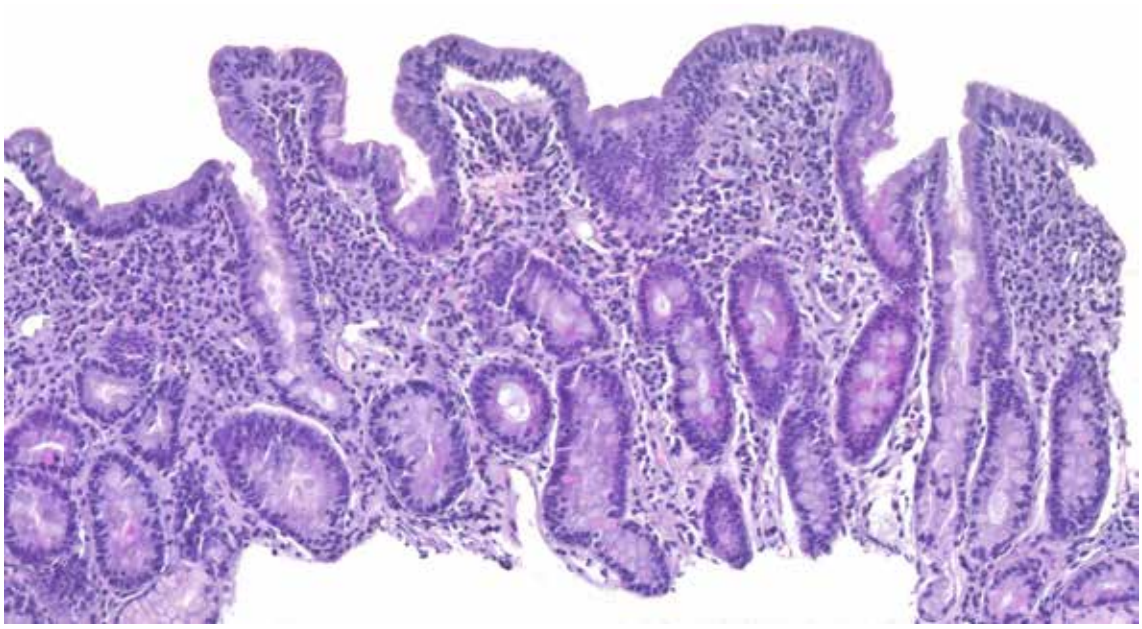
El aplanamiento de las vellosidades puede variar desde un grado moderado a severo, y en algunos casos se puede acompañar de linfocitosis intraepitelial parcheada o de actividad neutrofílica, a menudo acompañado también de pérdida de células caliciformes y del ribete en cepillo, así como de atenuación del epitelio de superficie.

Este patrón histológico plantea un amplio diagnóstico diferencial con otras entidades, como puede ser la enfermedad celiaca, de la que es indistinguible desde el punto de vista morfológico. En este escenario, la presencia de actividad neutrofílica significativa, así como la presencia de daño epitelial y la distribución parcheada de la linfocitosis intraepitelial favorecen una etiología relacionada con la inmunoterapia, en el contexto clínico adecuado (25). Sin embargo, la inmunoterapia puede desenmascarar una enfermedad celiaca latente y que los pacientes con enfermedad celiaca relacionada con inmunoterapia presentan una clínica e histología superponible a la duodenitis inducida por inmunoterapia. No obstante, estos pacientes presentan marcadores serológicos de enfermedad celíaca y responden favorablemente a una dieta sin gluten. Otras etiologías que deben incluirse en el diagnóstico diferencial incluyen la duodenitis péptica, una etiología infecciosa, la enteropatía autoinmune, la duodenitis inducida por fármacos (como los AINEs) y la enfermedad de Crohn.

### Granulomas

La presencia de granulomas no necrotizantes ha sido descrita hasta en el 18 % de las biopsias duodenales con sospecha de afectación gastrointestinal por inmunoterapia y en todos los casos se acompañaban de granulomas en las biopsias gástricas, sin evidencia de enfermedades granulomatosas sistémicas o infecciones activas en el seguimiento de los pacientes (9).

**Figura 6.** Biopsia duodenal con moderada expansión de predominio linfoplasmocitario de la lámina propia con marcada linfocitosis intraepitelial y aplanamiento vellositario (x200)



**COLON**

La diarrea es la presentación clínica más común en las colitis inmunomediadas, afectando del 13-35 % de los pacientes y en algunas series a más del 80 %. Los hallazgos endoscópicos incluyen eritema, perdida del patrón vascular, granularidad de la mucosa e incluso erosiones, ulceras y aplanamiento de la mucosa, aunque en muchos casos no se encuentran alteraciones (5,9). Los cuadros graves pueden asociarse a perforación, más frecuente cuando se administran fármacos anti-CTLA-4. En general la presencia de múltiples patrones histológicos de colitis en un paciente va a favor de una colitis inmunomediada. A continuación, se describen los patrones más frecuentes:

**Colitis activa (colitis activa autolimitada)**

Es el patrón más común y se caracteriza por infiltración neutrofílica de la lámina propia, criptitis y abscesos crípticos con o sin atrofia de criptas; puede acompañarse de un aumento del infiltrado mononuclear de la lámina propia, linfocitosis intraepitelial y apoptosis. Las criptas atróficas a menudo muestran un epitelio atenuado con detritus intraluminales, una morfología parecida a la descrita en la colitis inducida por micofenolato. Se han descrito l granulomas por rotura de criptas, pero los granulomas independientes bien formados son infrecuentes. Se describen características específicas en relación con los fármacos anti-CTLA-4 (ipilimumab), ya que suelen tener un patrón de colitis activa difusa sin características de cronicidad (9,14)

Entre los diagnósticos diferenciales de este patrón se encuentran la enfermedad inflamatoria intestinal, otros medicamentos e infecciones. Morfológicamente es imposible excluir un cuadro infeccioso, aunque la afectación concomitante del tracto gastrointestinal superior en paciente con inmunoterapia sugiere una colitis inmunomediada. En pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal de base es imposible distinguir los cambios de una colitis inmunomediada, aunque este diagnóstico es una de las contraindicaciones del tratamiento con inmunoterapia (8,9)

**Colitis crónica activa**

Este patrón es indistinguible de una enfermedad inflamatoria intestinal, exhibiendo una o más características de cronicidad como distorsión arquitectural, metaplasia de células de Paneth, linfocitosis basal asociado a cuadros de actividad, respondiendo estos pacientes a tratamientos usados para la enfermedad inflamatoria intestinal (8,24). Este patrón se ha descrito de forma más frecuente en pacientes en tratamiento con nivolumab, debido probablemente a que los tratamientos en este grupo son más prolongados (32)

**Colitis microscópica**

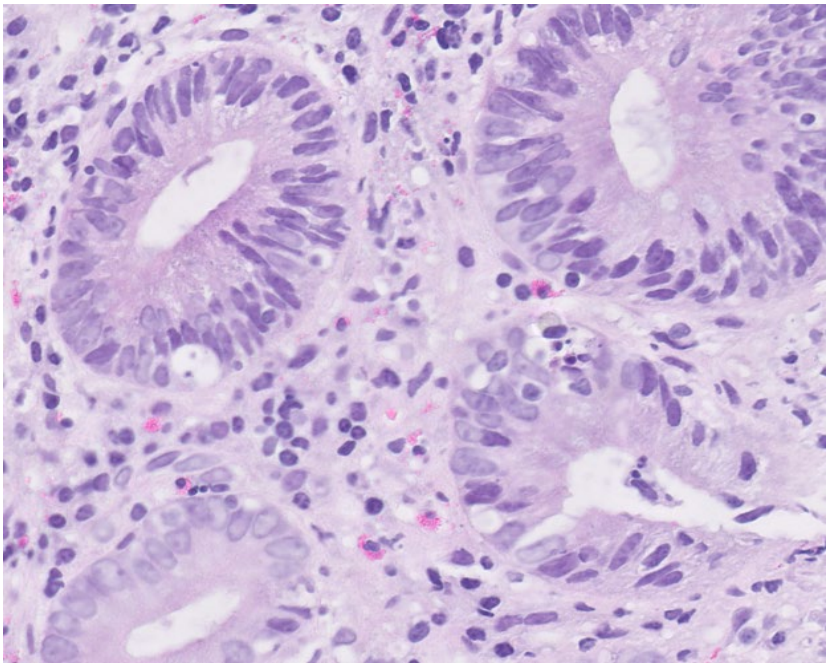
En estos patrones se incluyen la colitis linfocítica y la colitis colágena, En la colitis linfocítica existe un incremento de linfocitos intraepiteliales con aumento del infiltrado linfo-plasmocitario de la lámina propia, sin inflamación aguda destacable, se puede observar en relación apoptosis con depleción de mucina, y en el patrón de colitis colágena se reconoce un engrosamiento de la membrana basal subepitelial (14)

Este patrón se describe con mayor frecuencia en pacientes en tratamiento con anti-PD-1 que con otros inhibidores de punto de control inmunológico. Histológicamente un cuadro de colitis microscópica de novo es indistinguible de uno inmunomediado y el único hallazgo diferencial es que el patrón de colitis linfocítica en pacientes con inmunoterapia puede mostrar en el 50 % de los casos actividad neutrofílica. Se debe tener en cuenta el consumo de otros fármacos como antagonistas de receptores H2 usados para la dispepsia funcional, ya que pueden inducir una colitis linfocítica (5, 9)

**Apoptosis**

Este hallazgo puede observarse en los patrones de colitis activa y de colitis microscópica, o ser un patrón independiente, definido como un incremento de las apoptosis de criptas epiteliales con >5 por 10 CGA, sin aumento de la inflamación aguda o crónica (9). El patrón de apoptosis aislada debe diferenciarse de otras colopatías por medicamentos (idelalisib, micofenolato), enfermedad injerto contra huésped, infecciones por CMV o Cryptosporidium, colopatía autoinmune etc. Por tanto, es fundamental revisar la historia clínica y la medicación que consume el paciente (24).

**Figura 7.** Presencia de incremento de cuerpos apoptóticos



**HIGADO**

La hepatotoxicidad de mecanismo inmune o hepatitis inmunomediada se define como el aumento de las concentraciones de transaminasas o bilirrubina sérica en los pacientes tratados con IT. Los pacientes pueden estar asintomáticos, pero se han publicado casos de fracaso hepático agudo mortal (33,34). Los fármacos que con más frecuencia producen hepatitis autoinmune son los inhibidores de CTLA4, sobre todo si se combinan con inhibidores de PD-1 y PD-L1 y cuando se asocian a quimioterapia, con una odds ratio de 200 (IC al 95 % 6,6-297) según un reciente metaanálisis (35,36). Casi un 30 % de los pacientes tratados con ipilimumab y nivolumab en combinación desarrollan hepatotoxicidad, que es de alto grado en un 17 % de los casos mientras que el fármaco que menos riesgo asocia es atezolizumab (36). Esta potenciación de la toxicidad ha llevado a pensar que la inmunoterapia puede sensibilizar al hígado frente a la toxicidad por otros fármacos. Se ha descrito que hasta un 50 % de los pacientes que desarrollan lesiones hepáticas por IT presentan anticuerpos antinucleares y un 19 % anticuerpos frente al músculo liso (37). No se ha descrito aumento del riesgo de hepatotoxicidad ni de reactivación en los pacientes con una hepatitis B crónica (38).

Los criterios empleados para diagnosticar la hepatitis inmunomediada han sido establecidos por las recomendaciones CTCAEv4:

- Toxicidad grado 1:
  Aumento de GOT/GPT ≤ 3 veces por encima del límite superior de la normalidad (LSN)
  Aumento de bilirrubina ≤ 1,5 veces por encima del LSN.
- Toxicidad grado 2:
  Aumento de GOT/GPT hasta 3-5 veces por encima del límite superior de la normalidad (LSN)
  Aumento de bilirrubina hasta 1,5-3 veces por encima del LSN.
- Toxicidad grado 3:
  Aumento de GOT/GPT 5-20 veces por encima del límite superior de la normalidad (LSN)
  Aumento de bilirrubina ≤ 3-10 veces por encima del LSN.
- Toxicidad grado 4:
  Aumento de GOT/GPT >20 veces por encima del límite superior de la normalidad (LSN)
  Aumento de bilirrubina > 10 veces por encima del LSN.

Hasta el momento no se dispone de ningún marcador específico de hepatitis inmunomediada, a diferencia de lo que ocurre en los pacientes con hepatitis autoinmune, que tienen autoanticuerpos y aumento de las concentraciones de IgG o gammaglobulina.

**Diagnostico**

Para poder establecer el diagnóstico, se recomienda realizar una bioquímica hepática basal antes de comenzar la IT y descartar las posibles causas de hepatopatías (virales, metabólicas, etc.). Las pruebas de función hepática se deben repetir antes de cada ciclo de IT para poder tratar a los pacientes en función de la gravedad.

La mayor parte de los casos de hepatitis inmunomediada asociada a la IT se diagnostican clínicamente y la biopsia solo está indicada en los casos graves o que responden mal a los corticoides, aunque se puede valorar en algunos casos de toxicidad grado 2. Inicialmente se pensó que las biopsias de estos pacientes eran similares a las hepatitis autoinmunes, con hepatitis lobulillar con inflamación portal, pero algunas series más recientes han descrito rasgos específicos en función del tipo de inmunoterapia administrada (39,40)

La mayor parte de los casos de hepatitis inmunomediada se caracterizan por una lesión hepatocelular linfocitaria o granulomatosa y la presencia de células plasmáticas es menos llamativa que en los casos de hepatitis autoinmune. El patrón más frecuente encontrado cuando se administran fármacos anti-PD1/PDL1 es la hepatitis lobulillar, mientras que los fármacos anti-CTLA4 suelen producir

más un patrón granulomatoso con endotelitis de la vena central, dentro del cual se incluyen algunos casos de granulomas en anillo de fibrina, como los asociados a la fiebre Q (40).

**Tratamiento**

El tratamiento depende de la gravedad de la clínica. Si la toxicidad es de grado 1, se puede mantener la IT si el paciente está asintomático, pero si sufre síntomas o se agrava, se debería tratar como una toxicidad de grado 2. Dicho tratamiento incluye suspender la IT y administrar esteroides (0,5-1 mg/kg/día de prednisona oral). Cuando la toxicidad es de grado 3-4, se debe suspender la IT y administrar 1-2 mg/kg/día de metilprednisolona i.v.

Si el paciente mejora con esteroides, se puede valorar la reintroducción de la IT, sobre todo en casos de toxicidad leve, aunque recientes trabajos describen la reintroducción en casos de toxicidad grado 3-4 sin riesgo de recaída.

Si la analítica y/o la clínica no mejoran tras 48-72 horas de corticoterapia, se puede añadir micofenolato mofetilo (MFM), tacrólimus o azatioprina. No se recomienda emplear infliximab por la hepatotoxicidad de este fármaco (41).

Los casos de hepatitis fulminante son muy infrecuentes, pero en ellos se puede plantear la administración de globulina antitimocito, aunque esta opción se debe valorar de forma individualizada ante el riesgo de interferir con el tratamiento antitumoral.

**Bibliografía**


1. Schneider BJ, Naidoo J, Santomasso BD, y cols. Management of immunerelated adverse events in patients treated with immune checkpoint inhibitor therapy: ASCO guideline update. J Clin Oncol. 2021; 39(36): 4073–126.
2. Pauken KE, Dougan M, Rose NR, Lichtman AH, Sharpe AH.Adverse events following cancer immunotherapy: Obstacles and opportunities. Trends Immunol. 2019; 40: 511–23.
3. Kelly-Goss MR, Badran YR, Dougan M. Update on Immune Checkpoint Inhibitor Enterocolitis. Curr Gastroenterol Rep. 2022; 24: 171-81.
4. Wang Y, Abu-Sbeih H, Mao E, Ali N, Ali FS, Qiao W, Lum P, y cols. Immune-checkpoint inhibitor induced diarrhea and colitis in patients with advanced malignancies: retrospective review at MD Anderson. J Immunother Cancer 2018; 6: 37
5. Marthey L, Mateus C, Mussini C, Nachury M, Nancey S, Grange F, y cols. Cancer Immunotherapy with AntiCTLA-4 Monoclonal Antibodies Induces an Inflammatory Bowel Disease. J Crohns Colitis 2016; 10: 395-401
6. Haryal A, Townsend MJ, Baskaran V, Srivoleti P, Giobbie-Hurder A, y cols. Immune checkpoint inhibitor gastritis is often associated with concomitant enterocolitis, which impacts the clinical course. Cancer. 2023 Feb 1;129(3): 367-75.
7. Zhang ML, Neyaz A, Patil D, Chen J, Dougan M, Deshpande V. Immune-related adverse events in the gastrointestinal tract: diagnostic utility of upper gastrointestinal biopsies. Histopathology. 2020; 76: 233–43.
8. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Cowey CL, Lao CD, y cols. Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma. N Engl J Med 2015; 373: 23-34

9. Zhang ML, Deshpande V. Histopathology of Gastrointestinal Immune-related Adverse Events: A Practical Review for the Practicing Pathologist. Am J Surg Pathol 2022; 46: e15-e26.

10. Boike J, Dejulio T. Severe esophagitis and gastritis from nivolumab therapy. ACG Case Rep J. 2017; 4: e57.

11. Horisberger A, La Rosa S, Zurcher J-P, y cols. A severe case of refractory esophageal stenosis induced by nivolumab and responding to tocilizumab therapy. J Immunother Cancer. 2018; 6: 156.

12. Wang S, Morales S, Ren B, y cols. Immune-related esophagitis and duodenitis secondary to nivolumab-ipilimumab combination therapy. Am J Gastroenterol. 2018; 113: S1031–32.

13. Endo R, Nakamura Y, Ishizuki S, y cols. Ulcerative esophagitis associated with combined nivolumab and ipilimumab therapy. J Dermatol. 2020; 7: e299–e300.

14. Patil PA, Zhang X. Pathologic manifestations of gastrointestinal and hepatobiliary injury in immune checkpoint inhibitor therapy. Arch Pathol Lab Med. 2021; 145: 571–82.

15. Lisovsky M, Westerhoff M, Zhang X. Lymphocytic esophagitis: a histologic pattern with emerging clinical ramifications. Ann N Y Acad Sci. 2016; 1381: 133–8.

16. Rubio CA, Sjödahl K, Lagergren J. Lymphocytic esophagitis: a histologic subset of chronic esophagitis. Am J Clin Pathol. 2006; 125: 432–7.

17. Pittman ME, Hissong E, Katz PO, y cols. Lymphocyte-predominant esophagitis: a distinct and likely immune-mediated disorder encompassing lymphocytic and lichenoid esophagitis. Am J Surg Pathol. 2020; 44: 198–205.

18. Acero Brand FZ, Suter N, Adam J-P, y cols. Severe immune mucositis and esophagitis in metastatic squamous carcinoma of the larynx associated with pembrolizumab. J Immunother Cancer. 2018; 6: 22.

19. Zander T, Aebi S, Rast AC, y cols. Response to pembrolizumab in a patient with relapsing thymoma. J Thorac Oncol. 2016; 11: e147–9.

20. Zhu AX, Finn RS, Edeline J, y cols. Pembrolizumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma previously treated with sorafenib (KEYNOTE-224): a non-randomised, open-label phase 2 trial. Lancet Oncol. 2018; 19: 940–52.

21. Wang Y, Zhou S, Yang F, y cols. Treatment-Related Adverse Events of PD-1 and PD-L1 Inhibitors in Clinical Trials: A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA Oncol 2019; 5: 1008-19

22. Alruwaii ZI, Montgomery EA. Gastrointestinal and Hepatobiliary Immune-related Adverse Events: A Histopathologic Review. Adv Anat Pathol. 2022; 29: 183-93.

23. Johncilla M., Grover S., Zhang X., et al: Morphological spectrum of immune check-point inhibitor therapy-associated gastritis. Histopathology 2020; 76: 531-9.

24. Mitchell JM, Karamchandani DM. Histopathologic Manifestations of Immune Checkpoint Inhibitor Therapy-Associated Gastrointestinal Tract Injury: A Practical Review. Surg Pathol Clin. 2023; 16: 703-18.

25. Irshaid L, Robert ME, Zhang X. Immune Checkpoint Inhibitor-Induced Upper Gastrointestinal Tract Inflammation Shows Morphologic Similarities to, but Is Immunologically Distinct From, Helicobacter pylori Gastritis and Celiac Disease. Arch Pathol Lab Med. 2021; 145: 191-200.

26. Yip RHL, Lee LH, Schaeffer DF, Horst BA, Yang HM. Lymphocytic gastritis induced by pembrolizumab in a patient with metastatic melanoma. Melanoma Res. 2018; 28: 645-7.

27. Placke JM, Rawitzer J, Reis H, y cols. Apoptotic Gastritis in Melanoma Patients Treated With PD-1-Based Immune Checkpoint Inhibition - Clinical and Histopathological Findings Including the Diagnostic Value of Anti-Caspase-3 Immunohistochemistry. Front Oncol. 2021; 11: 725549

28. Farha N, Faisal MS, Allende DS, y cols. Characteristics of Immune Checkpoint Inhibitor-Associated Gastritis: Report from a Major Tertiary Care Center. Oncologist. 2023; 28: 706-13.

29. Dolladille C, Ederhy S, Sassier M, Cautela J, Thuny F, Cohen AA, Fedrizzi S,y cols. Immune Checkpoint Inhibitor Rechallenge After Immune-Related Adverse Events in Patients With Cancer. JAMA Oncol 2020; 6: 865-71

30. Mathialagan K, Tai CH, Sethi S, Thomas S, Loeser C. Immune Checkpoint Inhibitor-Induced Hemorrhagic Gastritis. ACG Case Rep J. 2023; 10: e01128.

31. Shrivastava S, Patel N. Isolated Immune Checkpoint Inhibitor-Induced Gastritis Leading to Gastrocolic Fistula Formation. ACG Case Rep J. 2024; 11: e01431.

32. Gonzalez RS, Salaria SN, Bohannon CD, Huber AR, Feely MM, Shi C. PD-1 inhibitor gastroenterocolitis: case series and appraisal of 'immunomodulatory gastroenterocolitis'. Histopathology 2017; 70: 558-67. doi:10.1111/his.13118

33. Postow MA, Sidlow R, Hellmann MD. Immune-related adverse events associated with immune checkpoint blockade. New Engl J Med. 2018; 378: 158-68.

34. Bhave P, Buckle A, Sandhu S, Sood S. Mortality due to immunotherapy related hepatitis. J Hepatol. 2018; 69: 976-78.

35. Hodi FS, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, y cols. Nivolumab plus ipilimumab or nivolumab alone versus ipilimumab alone in advanced melanoma (CheckMate 067): 4-year outcomes of a multicentre, randomised, phase 3 trial. Lancet Oncol. 2018; 19: 1480-92.

36. Oliveria C, Mainoli B, Duarte GS, y cols. Immune related serious adverse events with immune checkpoint inhibitors: systematic review and network analysis. Eur J Clin Phar 2024; 80: 677-84.

37. Poto R, Troiani T, Criscuolo G, y cols. Holistic approach to immune checkoint inhibitor related adverse effects. Front Immunol 2022; 13: 804597 https://doi: 10.3389/fimmu.2022.804597

38. Ia Z, Zhang J, Chen W, y cols. Hepatitis B reactivation in cancer patients receiving immune checkpoint inhibitors: a systematic review and meta-analysis Infectious Dis of Poverty 2023; 12: 87 https://doi.org/10.1186/s40249-023-01128-6

39. Reynolds K, Thomas M, Dougan M. Diagnosis and management of hepatitis in patients on checkpoint blockade. Oncologist 2018; 23: 991–7.

40. De Martin E, Michot J-M, Papouin B, y cols. Characterization of liver injury induced by cancer immunotherapy using immune checkpoint inhibitors. J Hepatol. 2018; 68: 1181-90.

41. Haanen J, Carbonnel F, Robert C, y cols. Management of toxicities from immunotherapy: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Annals Oncol. 2017; 28: iv119-iv142.

# Enfermedad Inflamatoria Intestinal: Estudio Macroscópico de piezas quirúrgicas con enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa

**Elvira González Obeso**
*Hospital Clínico Universitario de Valladolid*

El estudio macroscópico de las piezas quirúrgicas de resección con diagnóstico de enfermedad de Crohn (EC) o de colitis ulcerosa (CU) tiene por objeto consignar en el informe macroscópico todas aquellas lesiones visibles y realizar un muestreo sistemático de la pieza con el fin de documentar aquellas lesiones microscópicas que, aunque no sean visibles macroscópicamente, tendrán un impacto pronóstico en el paciente.

La resección quirúrgica se realiza en pacientes que presentan complicaciones derivadas de una enfermedad de larga evolución, suelen venir con una orientación diagnóstica y éstas complicaciones deben quedar recogidas en el informa macroscópico.

En la siguiente tabla, adaptada de Kellerman y cols.[1], se resumen los hallazgos principales que deben buscarse en las piezas quirúrgicas:

| Hallazgo | Colitis ulcerosa | Enfermedad de Crohn |
|---|---|---|
| Segmento afectado | Colon y recto | Todo el tracto gastrointesinal |
| Afectación ileal | Sólo en ileítis tipo *back-wash* | Afectado con frecuencia |
| Afectación del colon | Izquierdo > Derecho | Derecho > Izquierdo |
| Afectación del recto | Afectado de forma característica | Respetado de forma característica |
| Patrón de inflamación | Continuo (difuso) y superficial | Discontinuo (parcheado) y transmural |
| Características de las úlceras | Típicamente superficiales | De tipo aftoso con tendencia a fusionarse a patrones lineales más profundos |
| Patrón en empedrado | No característico | Característico |
| Skip-lesions | No característico | Característico |
| Presencia de fisuras | No característico | Característico |
| Presencia de fístulas | No característico | Característico |
| *Fat wrapping* | No característico | Característico |

| | | |
|---|---|---|
| Presencia de estenosis/constricciones | No característico | Característico |
| Presencia de seudopólipos inflamatorios | Presentes con frecuencia | Presentes a veces |
| Presencia de atrofia mucosa | Intensa con frecuencia | Mínima con frecuencia |
| Presencia de engrosamiento y/o fibrosis de la pared intestinal | Espesor normal con más frecuencia | Puedeestaraumentado |
| Presencia de serositis | Ocurreen colitis fulminante | Presente con frecuencia |

## HALLAZGOS MACROSCÓPICOS EN LA COLITIS ULCEROSA

La afectación difusa y contínua, sin presencia de segmentos preservados, es característica de la CU. La clasificación de Montreal[2] puede ser útil para clasificar la extensión y afectación de la CU: proctitis ulcerosa, CU izquierda y pancolitis. En algunas ocasiones pueden observarse zonas menos afectadas intercaladas adoptando un patrón en *«skip lesions»* que no debe confundirse con un patrón de EC. L

a afectación del íleon terminal en la CU puede ocurrir hasta en un 20 % de los casos[3] y se conoce como «*backwash ileitis*». La presencia de inflamación alrededor del orificio apendicular se llama «*cecal patch*»[4,5]. Además, por efecto del tratamiento tópico con corticoides puede observarse afectación parcheada en el recto[1].

La superficie mucosa puede ser edematosa, granular y friable en la CU activa. Pueden existir áreas con denudación de la mucosa en casos de afectación muy severa. La aparición de seudopólipos es consecuencia de la alternancia de áreas ulceradas con mucosa mejor preservada.

La serositis que aparece en los casos de afectación severa no es suficiente como para distinguir una CU de una EC.

La complicación más severa de la CU es el megacolon tóxico en el que la pared se presenta severamente adelgazada con intensa dilatación de la luz[6].

En una CU en fase quiescente la mucosa está más preservada con cierto aspecto granujiento y con presencia de seudopólipos[6]. El engrosamiento de la pared en una pieza quirúrgica de CU indica que la evolución es muy larga y presentará mucosa con aspecto atrófico[6].

Existen patrones macroscópicos de distribución menos frecuentes en la CU[9]: parche en el ciego y *backwash ileitis* que deben reconocerse para evitar realizar el diagnóstico erróneo de EC[7]. También es necesario tener en cuenta que hasta en el 30 % de las CU infantiles el recto está respetado, que en el 13 % de los adultos con un cuadro de colitis fulminante puede no existir afectación del recto y que hasta en el 44 % de los pacientes los tratamientos, tópicos o sistémicos, pueden condicionar la ausencia de lesiones rectales[4]. Otro efecto del tratamiento es que la afectación del colon sea parcheada en vez de contínua, como suele ser característico en la CU, lo que recuerda la necesidad imprescindible de realizar una correlación clínico-patológica. La afectación del orificio del apéndice en el ciego, «*cecal patch*», se asocia a la afectación del colon descendente hasta en el 75 % de los pacientes con una CU distal[8.]

## HALLAZGOS MACROSCÓPICOS EN LA ENFERMEDAD DE CROHN

La afectación del tracto gastrointestinal een la EC puede ser en toda su longitud, si bien la afectación más frecuente se localiza en el íleon terminal[1]. Aproximadamente un tercio de los pacientes con EC tienen afectación localizada en esta región, otro tercio sólo afectación colónica y el tercio restante ileo-colónica[9]. Las piezas quirúrgicas con EC muestran, de forma característica, afectación parcheada o discontínua con transiciones bien delimitadas entre áreas afectadas y no afectadas.

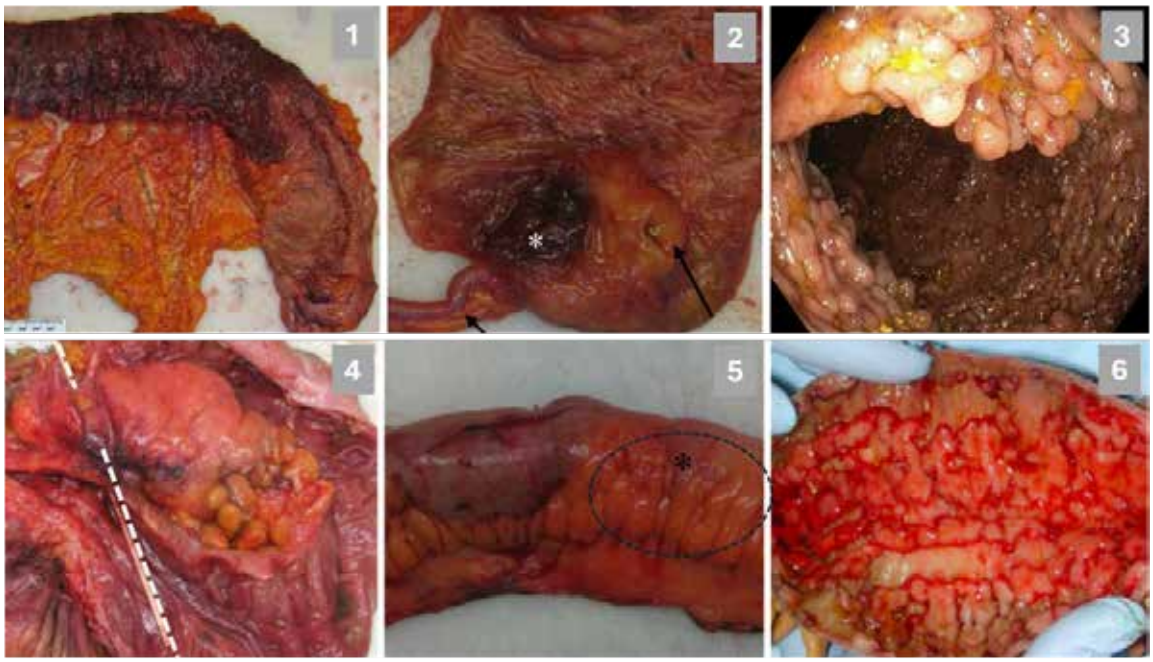
En los estadios iniciales la mucosa presenta aftas en relación con folículos linfoides, cuando éstas se fusionan, se vuelven más profundas y lineales confiriendo el aspecto en empedrado típico de la EC, también pueden verse seudopólipos inflamatorios al aparecer fenómenos de cicatrización[4].

La afectación de la superficie serosa suele expresarse como hiperemia con exudado inflamatorio; las adherencias aparecen en una EC de larga evolución. La extensión del tejido adiposo hacia el margen antimesentérico con intensa inflamación asociada suele observarse en la afectación ileal y se conoce como *«fat wrapping»* o *«creeping fat»* y se considera un hallazgo diagnóstico de EC ileal, aunque puede observarse también en el colon. Se ha asociado a una traslocación de la microbiota intestinal hacia el tejido adiposo que intenta encapsularla para evitar su diseminación[10].

Los fenómenos transmurales de fibrosis y proliferación fibromuscular confieren a la pared un aspecto rígido, pudiendo desarrollarse también áreas de estenosis, sobre todo cuando la afectación es ileal. Los casos más complejos asociarán fisuras y trayectos fistulosos que podrán asociar abscesos intramurales o intraabdominales con aparición de adherencias[6]. La afectación perianal es una característica de la EC e incluye los pólipos fibroepiteliales anales, úlceras, trayectos fistulosos ciegos y abscesos[4].

En la **Figura 1** se muestran algunos de los hallazgos más relevantes de la CU y de la EC.

**Figura 1.** Hallazgos macroscópicos en colitis ulcerosa (del 1 al 3) y en enfermedad de Crohn (del 4 al 6). La afectación de la mucosa es contínua en la CU, en forma de úlceras superficiales (1) con transiciones bien marcadas con la mucosa no afectada en el colon ascendente. En CU que afectan al colon descendente puede aparecer un parche de mucosa afectada en el ciego, *«cecal patch»* (*) de localización periapendicular. En CU de larga evolución los peseudopólipos son frecuentes (3). En la EC la afectación es parcheada con zonas de mucosa preservadas *«skip lesions»* y aparición de fístulas (marcada con línea blanca) (4). En casos de afectación severa la grasa del meso puede extenderse hacia la cara antimesentérica de la pieza (* y óvalo en 5). El aspecto en empedrado de la mucosa en (6) aparece como resultado de la fusión de las úlceras superficiales que como resultado se vuelven más profundas. Figura modificada de Kellerman y cols.[1]



## TALLADO DE LAS PIEZAS QUIRÚRGICAS

En los pacientes con una EC las piezas más frecuentes serán resecciones segmentarias de intestino delgado distal (íleon) y ciego o una colectomía derecha. La colectomía total es más frecuente en pacientes con CU. En todos los casos, las piezas deben abrirse por la cara antimesentérica para exponer la mucosa.

Se consideran características macroscópicas diagnósticas el aspecto de la mucosa (seudopólipos, úlceras lineales, aspecto en empedrado, fístulas). La posibilidad de que exista una neoplasia debe ser considerada en todos los casos y por eso se deben muestrear de forma amplía las lesiones sobreelevadas, induradas o que forman masas para un adecuado estudio histológico posterior.

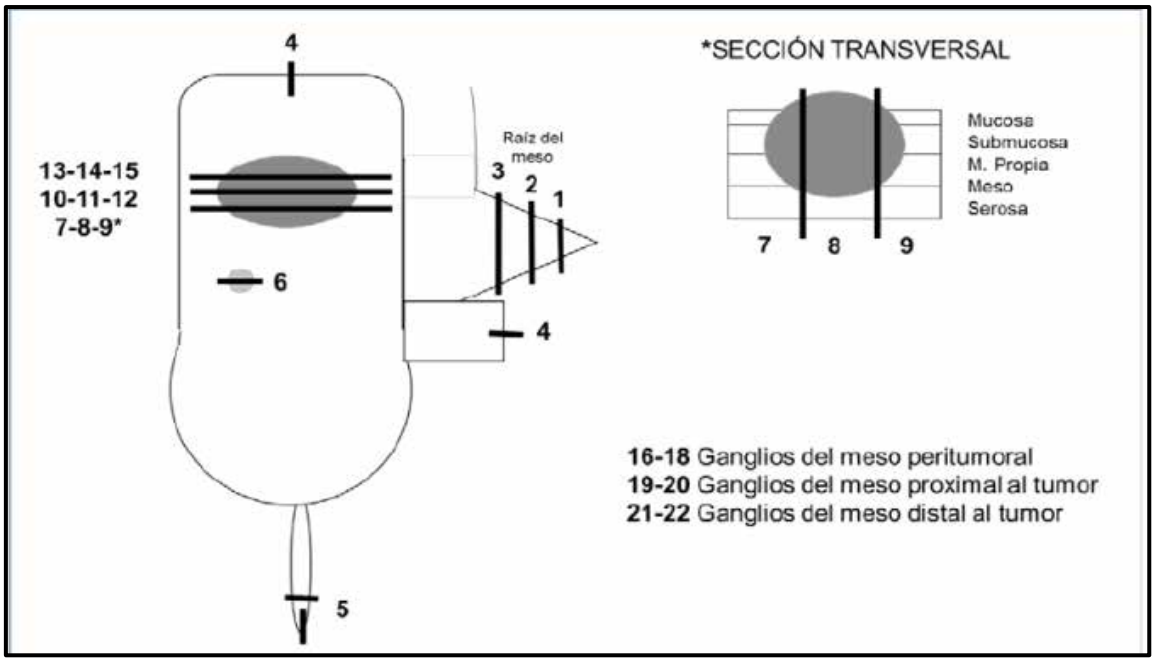
Los hallazgos en la serosa y el grosor de la pared también deberán ser consignados en la descripción macroscópica de la pieza[10].

Deberán tomarse muestras de los márgenes quirúrgicos, apéndice ileo-cecal, íleon terminal, válvula ileocecal y colon ascendente. En todo caso deberán incluirse muestras de mucosa afectada, sana y de la transición entre ambas, realizando un esquema o mapa para reflejar el origen de cada una[4].

Los ganglios linfáticos también deberán ser muestreados. Es recomendable realizar una disección ganglionar similar a la de una pieza oncológica ya que el tratamiento quirúrgico queda reservado a enfermedades de larga evolución que no han respondido a tratamiento médico y que, por su extensa duración, tienen más probabilidad de haber desarrollado un tumor.

La propuesta de tallado de una pieza de hemicolectomía derecha que hicimos en el Libro Blanco de la SEAP en 2017 podría servir de ejemplo ilustrativo[12], ver **Figura 2**.

**Figura 2.** El tallado de la pieza tiene como objetivo realizar la seleccion de muestras para estudio histologico. Una buena opcion es realizar un esquema de la pieza y marcar sobre éste las muestras que se incluyen en cada cápsula. En la figura se muestra el ejemplo de una pieza de hemicolectomia derecha con un tumor en colon ascendente y un lipoma proximal a dicho tumor que se muestrea en 22 bloques: 1 Extremo proximal de la raiz de la arteria ileocecoapendicular; 2-3 Ganglios intermedios de la raiz de la arteria ileocecoapendicular; 4 Márgenes proximal y distal de la pieza; 5 Apéndice ileocecal; 6 lipoma; 7-9, 10-12, 13-15 Secciones seriadas transversales del tumor perpendiculares a la luz y de proximal a distal -que permiten valorar el margen circunferencial-; 16-18 Ganglios del meso peritumoral; 19-20 Ganglios del meso del segmento de intestino proximal al tumor; 21-22 Ganglios del meso del segmento de intestino distal al tumor.



**Bibliografía**


1. Kellerman L, Riis LB. A close view on histopathological changes in inflammatory bowel disease, a narrative review. Dig Med Res 2021;4:3 | http://dx.doi.org/10.21037/dmr-21-1.
2. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, y cols. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. Can J Gastroenterol 2005; 19: Suppl A 5A-36A.
3. Haskell H, Andrews CW, Ready SI, y cols. Pathologic features and clinical significance of backwash ileitis in ulcerative colitis. Am J SurgPathol 2005; 29: 1472-81.
4. Langner C, Magro F, Driessen A, y cols. The histopathological approach to inflammatory bowel disease: A practice guide. Virchows Arch 2014; 464: 511-27.
5. Ladefoged K, Kristian Munck L, Jorgensen F, y cols. Skip inflammation of the appendiceal orifice: A prospective endoscopic study. Scand J Gastroenterol 2005; 40: 1192-6.
6. Patil DT, Greenson JK, Odze RD. Inflammatory Disorders of the Large Intestine. In: Odze RD, Goldblum JR. editors. Surgical Pathology of the GI Tract Liver Biliary Tract and Pancreas. Philadelphia, USA: Elsevier, 2022:496-543.eBook ISBN: 9780323872645.
7. Yantiss RK, Odze RD. Diagnostic difficulties in inflammatory bowel disease pathology. Histopathology 2006; 48:116-32. https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2005.02248.x
8. Ladefoged K, Munck LK, Jorgensen F, y cols. Skip inflammation of the appendiceal orifice: a prospective endoscopic study. Scand J Gastroenterol 2005; 40: 1192-6. https://doi.org/10.1080/00365520510023305
9. Roda G, Chien Ng S, Kotze PG, y cols. Crohn's disease. Nat Rev Dis Prim 2020; 6: 1-19.
10. Ha CWY, Martin A, Sepich-Poore GD, y cols. Translocation of Viable Gut Microbiota to Mesenteric Adipose Drives Formation of Creeping Fat in Humans. Cell 2020; 183: 666-83.e17.
11. Villanacci V, Reggiani-Bonetti L, Salviato T, y cols. Histopathology of IBD Colitis. A practical approach from the pathologists of the Italian Group for the study of the gastrointestinal tract (GIPAD). Pathologica 2021; 113: 39-53; DOI: 10.32074/1591-951X-235
12. González-Obeso E, Fernández Aceñero MJ, Fernández Victoria R, y cols. Recomendaciones del club de patología digestiva: Recomendaciones para el diagnóstico anatomopatológico del cáncer de colon. Libro Blanco de Anatomía Patológica. 2017; 241-66. Editorial © Sociedad Española deAnatomía Patológica, Gráficas DOSBI, SL. ISBN: 978-84-697-3704-0; VI-319/2015 – URLwww.seap.es/libros-blancos.

# Enfermedad Inflamatoria Intestinal: Valoración de la actividad inflamatoria en la colitis ulcerosa

**Mª Jesús Fernández-Aceñero**
*Departamento de Medicina Legal, Psiquiatría y Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad Complutense; Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Clínico San Carlos (IDiSSC); Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínico San Carlos. Madrid*

La colitis ulcerosa (CU) es una enfermedad que evoluciona en brotes con períodos de remisión. Aunque en la bibliografía se suelen unificar los términos actividad y gravedad de la enfermedad, realmente no son conceptos idénticos. El término actividad alude a la inflamación en un momento determinado, mientras que la gravedad incluye conceptos evolutivos a más largo plazo, como la respuesta a tratamientos, el número de ingresos o el grado de discapacidad.

Existen tres dominios que permiten valorar la gravedad de la CU:

- Influencia en la vida del paciente
- Grado de inflamación
- Evolución de la enfermedad, incluido el daño estructural

Estos tres dominios propuestos por Peyrin-Biroulet y cols. se incorporan de forma variable a la mayor parte de las escalas de valoración de la CU[1].

## ESCALAS DE VALORACIÓN CLÍNICA Y ENDOSCÓPICA

La escala de Truelove y Witts ha sido la base para valorar la gravedad de la clínica de los pacientes con CU[2]. La escala definida inicialmente en 1955 utilizaba los siguientes criterios para definir tres grados de afectación, según resume la Tabla 1:

**Tabla 1**: Escala de valoración de la gravedad de Truelove y Witts (1955)

| | Leve | Moderado | Grave |
|---|---|---|---|
| **Movimientos intestinales (diarios)** | <4 | 4-6 | 6 o más asociada al menos a fiebre, taquicardia, anemia o elevación de VSG |
| **Presencia de sangre en heces** | Escasa | Leve a grave | Sangre visible |
| **Pirexia (> 37,8ºC)** | No | No | Si |
| **Frecuencia del pulso > 90 lpm** | No | No | Si |
| **Anemia (Hemoglobina < 10 g/dl)** | No | No | Si |
| **Velocidad de sedimentación eritrocitaria** | ≤30 | ≤30 | >30 |

Aunque esta escala se complementaba con una evaluación endoscópica de la actividad inflamatoria, la forma de evaluación era muy subjetiva y poco reproducible, sobre todo para el seguimiento a largo plazo.

Posteriormente se han publicado numerosas modificaciones sobre esta escala inicial, con incorporación de nuevos datos analíticos, endoscópicos y de calidad de vida. Una de las más populares es la escala de la Clínica Mayo, con los criterios que resume la Tabla 2[3].

**Tabla 2**: Criterios de la Clínica Mayo

| | |
|---|---|
| **Frecuencia de defecación** | 0 = normal para el paciente<br>1 = 1-2 más de las habituales<br>2 = 3-4 más de las habituales<br>3 = 5 o más de las habituales |
| **Sangrado rectal** | 0 = sin sangre<br>1 = hebras de sangre menos del 50 % de veces<br>2 = sangre evidente la mayor parte de las veces<br>3 = expulsiónexclusiva de sangre |
| **Hallazgos en la endoscopia** | 0 = normal o inactiva<br>1 = enfermedad leve<br>2 = enfermedad moderada<br>3 = enfermedad grave |
| **Valoración global por parte del médico (bienestar del paciente, limitaciones, dolor abdominal)** | 0 = normal<br>1 = leve<br>2 = moderada<br>3 = grave |

Es evidente que existía una necesidad de unificar y crear criterios más objetivos y reproducibles para las escalas de valoración de la actividad en la endoscopia y en este sentido se emplean dos

escalasfundamentales, la escala endoscópica Mayo y la UCEIS (Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity). La UCEIS fue descrita por Travis y considera (Tabla 3)[4]:

**Tabla 3**: Criterios de evaluación UCEIS

| | |
|---|---|
| **Patrón vascular** | Normal (0)<br>Obliteraciónparcheada (1)<br>Obliterado (2) |
| **Sangrado** | Ausente (0)<br>Mucosa (1)<br>Luminal leve (2)<br>Luminal moderada o grave (3) |
| **Erosiones y úlceras** | Ausentes (0)<br>Erosiones (1)<br>Úlcera superficial (2)<br>Úlcera profunda (3) |

Cada uno de estos criterios viene claramente definido para reducir la subjetividad de la evaluación. Se considera remisión cuando el valor de UCEIS es 0-1; actividad leve (2-4); moderada (5-6) y grave (7-8). Ambas escalas resultan útiles y equivalentes en la práctica clínica[5].

En 2018, Siegel y cols. propusieron otra escala (Tabla 4), que incorpora además aspectos relacionados con el tratamiento y los ingresos hospitalarios de los pacientes[6]:

**Tabla 4.** Escala de Siegel y cols. (2018)

| Aspecto | Criterio | Puntuación |
|---|---|---|
| **Lesiones mucosas** | Ausencia de erosiones o úlceras activas<br>Erosiones activas en la endoscopia<br>Úlceras activas en la endoscopia | 0<br>14<br>18 |
| **Influencia en la actividad diaria** | No significativa<br>Significativa | 0<br>14 |
| **Concentración de la proteína C reactiva** | Normal<br>Leve incremento (3-5 mg/l)<br>Aumento notable (> 5 mg/l) | 0<br>4<br>11 |
| **Uso de fáarmacos biológicos** | Nunca<br>Algo de mejoría con ellos<br>Ausencia de mejoría con ellos | 0<br>4<br>10 |
| **Ingreso hospitalario reciente** | Ninguno en el último año<br>Alguno en el último año | 0<br>8 |
| **Uso de esteroides en el último año** | No<br>Si | 0<br>8 |
| **Frecuencia de heces blandas** | Ningún cambio en la habitual<br>Aumento de un día frente a lo habitual<br>Al menos 2 días más que lo habitual | 0<br>4<br>5 |
| **Anemia** | No<br>Si | 0<br>5 |
| **Albúmina** | Normal<br>Baja | 0<br>5 |

| | | |
|---|---|---|
| **Extensión de la enfermedad** | Distal<br>Extensa | 0<br>5 |
| **Defecacionesnocturnas** | No<br>Si | 0<br>4 |
| **Síntomasanorrectales** | Ninguno<br>Al menos uno: dolor, urgencia, incontinencia, tenesmo | 0<br>4 |
| **Sangrado rectal** | No<br>Si | 0<br>3 |

Como se puede observar, además de los criterios clínicos clásicos, las distintas escalas tratan de incorporar aspectos vinculados con los tratamientos empleados y los hallazgos analíticos y de la endoscopia, para valorar la situación del paciente de forma holística.

Se estima que entre un 15-20 % de los casos de CU debutan en la edad pediátrica y en los países occidentales se observa una tendencia al aumento de la incidencia en niños (pasando en España de 0,39/100.000 a 0,88/100.000 habitantes/año desde 1996 a 2009)[7]. La clasificación de la CU en niños depende de la extensión y la gravedad. La clasificación de la extensión es E1 para la proctitis exclusiva; E2 para la colitis izquierda; E3 para la colitis que alcanza el ángulo hepático y E4 para los casos que superan dicho ángulo y se consideran pancolitis. En los niños la gravedad usando el índice PUCAI (PaediatricUlcerative Colitis Activity Index), que contempla los siguientes aspectos y sus correspondientes puntuaciones[8]:

- Dolor abdominal:
  - Ausencia de dolor = 0
  - Dolor que se puede ignorar = 5
  - Dolor que no se puede ignorar = 10
- Hemorragia rectal:
  - No = 0
  - Pequeña cantidad en menos del 50 % de las deposiciones = 10
  - Pequeña cantidad en la mayorparte de las deposiciones = 20
  - Gran cantidad (> 50 % de la deposición) = 30
- Consistencia de las heces:
  - Formadas = 0
  - Parcialmente formadas = 5
  - Sin forma = 10
- Número de deposiciones diarias:
  - 0-2 = 0
  - 3-5 = 5
  - 6-8: 10
  - > 8 = 15
- Deposiciones nocturnas:
  - Ninguna = 0
  - Alguna = 10
- Nivel de actividad:
  - Sin limitación = 0
  - Limitación ocasional = 5
  - Actividad muy limitada = 10

El valor máximo total del índice PUCAI es 85 y las definiciones de gravedad son:

- < 10: ausencia de actividad (remisión)
- 10-34: actividadleve
- 35-64: actividad moderada
- ≥65: actividadgrave

Además, existen otras escalas que valoran la necesidad de colectomía en pacientes con una CU grave aguda o fulminante, como el índice de Travis (Oxford) o el índice de Ho[9], cuya capacidad predictiva se considera comparable.

## ESCALAS DE VALORACIÓN HISTOLÓGICA

Como se ha comentado previamente para la valoración de la actividad clínica y endoscópica, a lo largo del tiempo se han descrito diversas escalas orientadas a valorar la actividad histológica de la CU. Es sabido que no existe una correlación perfecta entre la respuesta clínica y endoscópica y el grado de actividad histológico[10].

En la práctica clínica se emplean principalmente tres escalas: el índice histopatológico de Robarts (RHI), el índice de Geboes (GS) y el índice de Nancy (NI). El RHI y el NI están validados, mientras que el GS no lo está, aunque se emplea de forma generalizada en la clínica por su buena concordancia interobservador.

El índice de Robarts se basa en la evaluación de cuatro parámetros[11]:

- Infiltración por células inflamatorias crónicas
- Presencia de neutrófilos y eosinófilos a nivel de la láminapropia
- Presencia de neutrófilos en el epitelio
- Erosión y ulceración de la mucosa

Cada uno de estos parámetros se grada de 0 a 3 y posteriormente se pondera (multiplicando por 1, 2, 3 y 5), lo que genera una escala cuyo valor oscila entre 0 (no actividad) a 33 (actividad severa)[12]. Este índice considera remisión un valor de 3 o inferior sin neutrófilos en la lámina propia ni el epitelio y sin erosiones/úlceras y respuesta un valor de 9 o inferior sin neutrófilos en el epitelio ni erosiones/úlceras. Sin embargo, no existe una clara definición de la actividad y cómo gradarla[13].

La escala de Geboes incluye 6 criterios, pero cada uno se subdivide en varias subcategorías, lo que genera un total de 29 categorías. Aunque se supone que son categorías ordenadas y que cuanto mayor es el valor obtenido, mayor es la actividad, se considera un indice complejo de medir y esto ha limitado su uso en la práctica clínica.

Los criterios que se incluyen en la GS son[14]:

- Grado 1: infiltrado inflamatorio crónico
  - 1.0 No aumento
  - 1.1 Aumento leve, pero evidente
  - 1.2 Aumento moderado
  - 1.3 Aumento marcado
- Grado 2A: presencia de eosinófilos en la lámina propia
  - 2A.0 No aumento
  - 2A.1 Aumento leve, pero evidente
  - 2A.2 Aumento moderado
  - 2A.3 Aumento marcado
- Grado 2B: presencia de neutrófilos en la lámina propia
  - 2B.0 No aumento

    - 2B.1 Aumento leve, pero evidente
    - 2B.2 Aumento moderado
    - 2B.3 Aumento marcado
- Grado 3: presencia de neutrófilos en el epitelio
    - 3.0 No
    - 3.1 Afectación de < 5 % de las criptas
    - 3.2 Afectación de 5-50 % de las criptas
    - 3.3 Afectación de > 50 % de las criptas
- Grado 4: destrucción de criptas
    - 4.0 No
    - 4.1 Probable: neutrófilos en una parte de la cripta
    - 4.2 Probable: marcada atenuación de la cripta
    - 4.3 Destrucción incuestionable de criptas
- Grado 5: erosiones o ulceraciones
    - 5.0 No
    - 5.1 Epitelio regenerativo e inflamación
    - 5.2 Erosión probable
    - 5.3 Erosión indudable
    - 5.4 Úlcera o tejido de granulación

Para mejorar la interpretación se ha propuesto una escala de Geboes simplificada, cuya capacidad diagnóstica es similar a la obtenida con la escala global descrita. Enestaescalasimplificada se valora:

- Grado 0: ausencia de actividadinflamatoria
    - 0.0 Normal
    - 0.1 Cambio arquitectural
    - 0.2 Cambio arquitectura e infiltrado inflamatorio crónico
- Grado 1: plasmocitosis basal
    - 1.0 Normal
    - 1.1 Leve aumento
    - 1.2 Marcado aumento
- Grado 2A: eosinófilos en la lámina propia
    - 2A.0 Normal
    - 2A.1 Leve aumento
    - 2A.2 Marcado aumento
- Grado 2B: neutrófilos en la lámina propia
    - 2B.0 Normal
    - 2B.1 Leve aumento
    - 2B.2 Marcado aumento
- Grado 3: neutrófilos en el epitelio
    - 3.0 Ninguno
    - 3.1 < 50 % de criptas afectadas
    - 3.2 > 50 % de criptas afectadas
- Grado 4: lesión epitelial críptica o en epitelio superficial
    - 4.0 Ninguno
    - 4.1 Atenuación marcada
    - 4.2 Probable destrucción de criptas o erosiones
    - 4.3 Destrucción de criptas o erosión indudables
    - 4.4 Úlcera o tejido de granulación

A pesar de su dificultad, el índice de Geboes es el más empleado para valorar la actividad histológica de la CU de forma general.

Por último, el índice de Nancy es más sencillo y solo considera tres características:

- Infiltrado inflamatorio crónico
- Infiltrado inflamatorio agudo
- Ulceración

Cada uno de estos parámetros se grada de 0-4. Los autores de este índice propusieron un sencillo algoritmo de interpretación para uso clínico de forma que:

- Cualquier paciente con úlceras se considera grado 4 (actividad grave)
- Si existe inflamación aguda, el grado será:
  - 3 si la intensidad es moderada o severa
  - 2 si es leve
- En ausencia de inflamación aguda y presencia exclusiva de inflamación crónica:
  - 1 si hay un aumento moderado a intenso de la inflamación crónica
  - 0 si hay un aumento leve

Este esquema simplifica mucho la interpretación de la actividad del proceso, con una buena concordancia entre observadores[15].

En un reciente trabajo se analizó la reproducibilidad interobservador para los tres índices. En este estudio se obtuvieron valores de concordancia de 0,9 y 0,64 para las escalas RHI y NI, respectivamente, mientras que el valor para la GS fue solo aceptable (0.53). Al analizar los distintos componentes de la GS, se vio una reproducibilidad mala para la categoría 2A y aceptable para todas las demás. El análisis de la capacidad de valorar la evolución a lo largo del tiempo demostró que los tres índices permiten medir bien la evolución de la enfermedad y se correlacionan de forma similar con los índices clínicos y endoscópicos[13].

Por tanto, no está claro que un indice sea superior a otro, pero es importante que el patólogo recoja en su informe todos los aspectos morfológicos incluidos en los mismos para que el digestólogo pueda valorar la respuesta histológica y determinar si se corresponde o no con la clínica y endoscopia del paciente.

**Bibliografía**


1. Peyrin-Biroulet L, Panés J, Sandborn WJ, y cols. Defining Disease Severity in Inflammatory Bowel Diseases: Current and Future Directions Clin Gastroenterol Hepatol 2016; 14: 348-54.

2. Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial. Br Med J 1955; 2: 1041–8.

3. Schroeder KW, Tremaine WJ, Ilstrup DM. Coated Oral 5-Aminosalicylic Acid Therapy for Mildly to Moderately Active Ulcerative Colitis. N Engl J Med. 1987; 317: 1625-9.

4. Travis SPL, Schnell D, Krzeski P, y cols. Developing an instrument to assess the endoscopic severity of ulcerative colitis: the Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity (UCEIS). Gut. 2012; 61: 535-42.

5. Pagnini C, Di Paolo MC, Mariani MB, y cols. Mayo Endoscopic Score and Ulcerative Colitis Endoscopic Index Are Equally Effective for Endoscopic Activity Evaluation in Ulcerative Colitis Patients in a Real Life Setting Gastroenterol insights 2021; 12: 217-24.

6. Siegel CA, Whitman CB, Spiegel BMR, y cols. Development of an index to define overall disease severity in IBD. Gut. 2018;67: 244-54. https://doi.org/10.1136/gutjnl-2016-312648.

7. Rodríguez Martínez A, Velasco Rodríguez-Belvis M, Navas López VM. Enfermedad inflamatoria intestinal: colitis ulcerosa y enfermedad inflamatoria intestinal no clasificada Protoc diag pediatr. 2023; 1: 207-21.

8. Turner D, Otley AR, Mack D, y cols. Development, validation and evaluation of a pediatric ulcerative colitis activity index: a prospective multicenter study. Gastroenterol 2007; 133: 423-32.

9. Lynch RW, Churchhouse AMD, Protheroe A, y cols. UK IBD Audit Steering Group Predicting outcome in acute severe ulcerative colitis: comparison of the Travis and Ho scores using UK IBD audit data Aliment PharmacolTher 2016 ; 43: 1132-41.

10. BordeArkteg C, Wergeland Sorbye S, Buhl Riis L, y cols. Real life evaluation of histologic scores for ulcerative colitis in remission. PLoS ONE 16(3): e0248224. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248224

11. Mosli MH, Feagan BG, Zou G, y cols. Development and validation of a histological index for UC. Gut 2017; 66: 50–8.

12. Pai RK, Khanna R, D'Haens GR, y cols. Definitions of response and remission for Robarts Histopahology Index. Gut 2019; 68: 2101-2.

13. Peyrin-Biroulet L, Arenson E, Rubin DT, y cols. A Comparative Evaluation of the Measurement Properties of Three Histological Indices of Mucosal Healing in Ulcerative Colitis: Geboes Score, Robarts Histopathology Index and Nancy Index. J Crohn and colitis 2023; 11: 1733-43.

14. GeboesK.Histopathology of Crohn's disease and ulcerative colitis.Inflamma bowel dis. 2003; 4: 210–8.

15. Jauregui-Amezaga A, Geerits A, Das Y, y cols. A Simplified Geboes Score for Ulcerative Colitis J Crohns Colitis.2017; 11: 305-13. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjw154

16. Marchal-Bressenot A, Salleron J, Boulagnon-Rombi C, y cols. Development and validation of the Nancy histological index for UC Gut 2017; 66: 43–9. doi:10.1136/gutjnl-2015-310187.

# Enfermedad Inflamatoria Intestinal: Enfermedad de Crohn: presentación clínica

**Rebeca Fernández Victoria**
*Médico adjunto. Unidad de patología digestiva. Servicio de Anatomía patológica Hospital Álvaro Cunqueiro. Vigo*

## GENERALIDADES

La enfermedad de Crohn (EC) es una afectación inflamatoria idiopática intestinal crónica caracterizada por afectación sparcheada e inflamación transmural que puede afectar a todo el tracto gastrointestinal, desde la boca hasta el ano.

Los síntomas de presentación pueden ser variables e incluyen diarrea, dolor abdominal, pérdida de peso, naúseas, vómitos y en ciertos casos, fiebre y escalofríos.

Existen tres fenotipos de principales de enfermedades: inflamatorias, estructurales y penetrantes. Además del fenotipo de la enfermedad subyacente, hasta un tercio de los pacientes desarrollarán afectación perianal de su enfermedad e incluso en algunos casos, manifestaciones extraintestinales.

El diagnóstico se realiza tipicamente a partir de los hallazgos endoscópicos/y/o radiológicos[1].

La enfermedad de Crohn fue descrita por primera vez por el Dr. Burrill B. Crohn y sus colegas en 1932. Junto con la colitis ulcerosa, se encuentra dentro del espectro de la enfermedad inflamatoria crónica intestinal (EII). La enfermedad de Crohn muestra una incidencia anual que varía desde los 3-20 casos/100.000 habitantes; en EE.UU., por ejemplo, una estimación reciente habla que 1,3 % de la población padece la enfermedad (3 millones de individuos).

La edad media de aparición de la enfermedad son 30 años y tiene dos picos, primero entre los 20-30 años y el segundo más pequeño alrededor de los 50 años[1].

La historia natural de la enfermedad se caracteriza por periodos de brotes y remisiones. Existen múltiples fenotipos diferentes. El papel de la dieta en el desarrollo de la E C tampoco está claro. Algunos estudios han sugerido que las dietas ricas en azúcar, ácidos grasos omega 6, ácidos grasos poliinsaturados, grasa total, aceite y carne, aumentan el riesgo de EC, mientras que una dieta rica en fibra y frutas lo disminuye. Sin embargo, se necesitarian más estudios para valorar si el tipo de dieta es realmente un riesgo desencadenante[2].

## FACTORES DE RIESGO GENÉTICO

Aunque los antecedentes familiares indican un aumento del riesgo, sólo entre 10-25 % de los pacientes con EII tienen un familiar de primer grado con la enfermedad. En estudios de gemelos las

tasas de concordancia para la EC en gemelos monocigóticos varían entre 20-50 % en comparación con 10 % en gemelos dicigóticos.

La EC es más frecuente en pacientes de origen judío Ashkenazi[3] que en no judíos y se observa menor incidencia en afroamericanos o hispanos. Aunque todavia están en estudio, más de 200 genes se asocian al desarrollo de EII. El primer gen descubierto fue el locus NOD2 en el cromosoma 16. Los cambios homocigotos en NPOD2 tienen un riesgo 20 o 40 veces mayor de desarrollar EC, mientras que ser heterocigoto aumenta el riesgo de 2 a 4 veces.

## LOCALIZACIÓN DE LA ENFERMEDAD

Puede afectar a cualquier parte del tracto gastrointestinal. El 50 % de los pacientes presentan afectación del ileon terminal y el colon, el 30 % sólo muestran afectación de intestino delgado y el 20 % de los casos se limitan al colon. Además, el 25 % de los pacientes sufren complicaciones perianales, como fisuras y fístulas[4].

## FENOTIPO DE LA ENFERMEDAD

Con fines de investigación y tratamiento, la EC se ha dividido en tres subtipos fenotípicos: inflamatorio, estenosante y fistulizante, según predominen unos u otros cambios. La enfermedad perianal no se considera un fenotipo como tal, sino que se considera una complicación que puede desarrollarse independientemente del fenotipo subyacente

Como ya se ha comentado, la EC puede afectar a cualquier tramo del tubo digestivo, siendo su localización más frecuente el íleon. Se trata de una enfermedad transmural cuyas manifestaciones clónicas dependerán de la localización de la enfermedad (ileal, cólica e ileo-cólica o tracto digestivo alto), el comportamiento (fenotipo) y la severidad del cuadro.

El inicio de la enfermedad en edades tempranas se considera un factor de riesgo dado que se asocia a fenotipos más agresivos. Estos parámetros son considerados en la Clasificación de Montreal [4] con el objetivo de evaluar subgrupos de pacientes, facilitando la comparación entre poblaciones y unificando criterios en estudios clínicos. Los síntomas de presentación de la EC son heterogéneos, pero suelen incluir dolor abdominal, pérdida de peso y/o diarrea crónica. La situación clínica más frecuente es un paciente joven con dolor abdominal en el cuadrante inferior derecho, asociado a bajo peso. La fatiga y la anorexia son síntomas comunes. En pacientes con afectación del colon, la clínica es similar a la de la CU, presentándose con diarrea con sangre y /o mucosidad junto con síntomas rectales si existe una proctitis. Hasta un tercio de los pacientes presentan enfermedad perianal que se manifiesta clínicamente con dolor, secreción perianal y formación de microabscesos, provocando en algunos casos incontinencia.

En la exploración física, se evaluarán los signos de compromiso sistémico: desnutrición, deshidratación o anemia. En la exploración abdominal, se debe evaluar la presencia de dolor abdominal y la existencia de una masa palpable en el cuadrante inferior derecho, que representa asas intestinales y/o mesenterio engrosado o un absceso. La región perianal se debe explorar de forma rutinaria en pacientes con diagnóstico o sospecha de EC, pudiendo observarse lesiones como fisuras y/o fístulas con o sin abscesos.

Hasta el 35-40 % de los pacientes presentan manifestaciones extraintestinales[3] principalmente articulares, cutáneas u oculares que incluso pueden preceder al diagnóstico de la EC en el 25 % de los casos. Algunas pueden ser: eritema nodoso, úlceras orales, epiescleritis y artropatia periférica pauciarticular (tipo 1), que se caracteriza por el dolor en grandes articulaciones principalmente rodillas, tobillos y muñecas en el contexto de EII activa.

Para evaluar la actividad clínica de la EC y analizar la respuesta al tratamiento en los ensayos clínicos se han desarrollado índices como el «Crohn Disease Activity Index «(CDAI), que considera ocho

parámetros: número de deposiciones /dia, dolor abdominal, estado general además de complicaciones, uso de antidiarreicos, masa abdominal, hematocrito y peso del paciente.

## PRUEBAS ANALÍTICAS EN LA EC

Las alteraciones más observadas son anemia, trombocitosis y elevación de parámetros inflamatorios como proteina C reactiva (PCR) y la velocidad de sedimentación globular (VSG). Es posible observar hipoalbuminemia y déficit de vitaminas en pacientes con afectación del intestino delgado. En los pacientes con crisis leve, los parámetros analíticos no suelen mostrar alteraciones relevantes. Algunos marcadores serológicos pueden ser útiles a la hora de confirmar el diagnóstico, como los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo de tipo mieloperoxidasa (p-ANCA) o los anticuerpos frente al *Saccharomyces cerevisae* (ASCA). Un 60-70 % de pacientes con EC presentan ASCA con una utilidad diagnóstica baja, pero con algún significado pronóstico, dado que aquellos pacientes con títulos elevados de estos anticuerpos tiene mayor probabilidad de desarrollar fenotipos más agresivos. También puede ser de utilidad los pANCA

La calproctetina fecal (CF)[1] es una proteína contenida en los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos, que representa un 60 % del contenido total de proteínas presentes en el citoplasma de los neutrófilos. Se encuentran concentraciones elevadas en las heces de los pacientes con diversos procesos inflamatorios intestinales, constituyendo una herramienta para orientar qué pacientes deberían someterse a estudio endoscópico. La utilidad de la CF como marcador diagnóstico en EII ha sido ampliamente estudiada, demostrando una alta sensibilidad (80-98 %) y especificidad (68-96 %)[2]. El punto de corte varía entre 50-250 μg/g, teniendo en los valores inferiores a 100 μg/g, un alto valor predictivo negativo para EII. La Sociedad Europea de Gastroenterologia (UEG) recomienda medir CF en el momento del diagnóstico de EII para contar con un valor basal que permita comparaciones futuras.

La disminución de CF puede predecir la respuesta clínica y endoscópica al tratamiento. Un valor de CF superior a 250 μg/gsugiere la persistencia de la inflamación o mayor probabilidad de brote en pacientes asintomáticos, justificando la realización de un estudio endoscópico. En los pacientes con CF entre 100-250 μg/gse recomienda realizar una segunda medición a los tres meses para definir la conducta a seguir.

Otras determinaciones que podrían ser útiles en el momento del diagnóstico para prevenir infecciones, al ser pacientes tratados con inmunosupresores, son estudios para la hepatitis C, el virus de Epstein Barr o VIH.

### Bibliografia


1. Feuerstein JD, Cheifetz AS. Crohn disease: epidemiology, diagnosis and management. Proceedings of the Mayo Clinic. Volumen 92, Issue 7, pages 1088-1103.
2. Maaser C, Sturm A y col. ECCO-ESGAR Guideline for diagnostic Assessment in IBD. Part1: initial diagnosis, monitoring of knonwIBD, detection of complications.
3. Torres J, MehandruS y col. Crohn´s disease. Lancet 2017; 389: 1741-55
4. Hyams JS. Standardizad recording of parameters related to the natural history of inflammatory bowel disease: from Montreal to Paris. Dig Dis 2014; 32:337-44.
5. Reenaers C, BossuytvP y col. Expert opinion for use of fecal calprotectin in diagnostic and inflamatory bowel disease in daily clinical practise. United Euroepan Gastroenterolog J, 2018; 6:, 1117-25.

# Enfermedad Inflamatoria Intestinal: Histología de la enfermedad de Crohn y diagnóstico diferencial con la colitis ulcerosa

**Eva Musulén**[1,2]

1. *Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitari General de Catalunya-Grupo Quironsalud, SantCugat del Vallès, Barcelona.*
2. *Grupo de Epigenética del Cáncer. Institut de Recerca contra la Leucèmia Josep Carreras, Badalona, Barcelona.*

## ENFERMEDAD DE CROHN

La enfermedad inflamatoria intestinal (EII) hace referencia a las dos enfermedades crónicas no infecciosas caracterizadas por la afectación intestinal y extraintestinal, a saber, la colitis ulcerosa (CU) y la enfermedad de Crohn (EC). La enfermedad de Crohn puede afectar a cualquier zona del tracto gastrointestinal (GI), desde la boca hasta el ano, siendo más frecuente en la zona ileocecal, mientras que la CU se limita al recto con una porción variable del colon.

El rasgo histológico característico de la EC es el granuloma epitelioide. La presencia de granulomas es considerada por algunos autores como indicador predictivo del comportamiento de la EC, identificando a aquellos pacientes con afectación más extensa, a menudo con afectación ileocolónica y del tracto GI superior. Sin embargo, no siempre se encuentran granulomas en el tejido de las biopsias, incluso en las muestras resecadas de pacientes con EC. Además, pueden encontrarse granulomas criptolíticos, como resultado de la rotura de criptas, hasta en un 5 % de las biopsias de CU.

### Esófago

La EC que afecta sólo al esófago es poco frecuente. En el momento de los síntomas esofágicos los pacientes suelen presentar otras manifestaciones intestinales o extraintestinales de la EC. El esófago distal está afectado en el 80 %, el tercio medio e inferior en el 15 %, y toda la afectación en el 5 %[1].

Las lesiones más frecuentes descritas en la endoscopia son eritema, erosiones y úlceras aftosas. En fase tardía, aparecen estenosis y taponamiento de la mucosa. La ausencia de rasgos histológicos característicos de la EC en la biopsia dificulta el diagnóstico. Sólo se encuentran granulomas no necrotizantes en el 7 al 9 % de los casos. Un infiltrado linfocítico en la lámina propia es el hallazgo más común para sospechar la enfermedad en un paciente con manifestaciones de Crohn en otra localización del tracto gastrointestinal[2].

**Estómago**

Aunque es la menos frecuente, la afectación aislada del tracto GI superior es ahora una forma de localización de la enfermedad reconocida en el diagnóstico de la EC según los Sistemas de Clasificación de Montreal para la EII[3, 4]. Sin embargo, algunos autores consideran un dogma obsoleto que las lesiones inflamatorias del tracto GI superior en el contexto de la EII sean diagnósticas de EC[5].

El *bomboo-joint-like* (BJL) es un hallazgo endoscópico reciente caracterizado por la presencia de pliegues longitudinales inflamados atravesados por fisuras erosivas del cuerpo gástrico y cardias. Histológicamente, se observan glándulas hiperplásicas y edema inflamatorio de la lámina propia. Este signo *se* observa hasta en el 60 % de los pacientes con EC. Aunque el BJL no es patognomónico de esta enfermedad, reconocer este patrón podría ser importante en la identificación de pacientes afectados de EC.

La gastritis con realce focal (FEG) se ha descrito como una manifestación frecuente de la EII en el tracto gastrointestinal superior, más frecuente en pacientes con EC (40-70 %)[6, 7]pero también se describe en CU (20 %)[8]. Esta asociación a sido identificada incluso en la edad pedriátrica[9]. El FEG se define como una inflamación en glándulas aisladas de la mucosa. El componente inflamatorio corresponde predominantemente a linfocitos e histiocitos, pero también pueden encontrarse neutrófilos, eosinófilos y células plasmáticas. En el antro, la localización más frecuente, la inflamación focal se localiza en las regiones ístmicas de las foveolas o en las glándulas gástricas. En el duodeno, las criptas están afectadas. Este tipo de gastritis no es específico de la EII y aunque puede aparecer en muchas otras patologías podría utilizarse como predictor de EC en aquellos pacientes con ileítis. La FEG es un diagnóstico de exclusión y debe descartarse la infección por *Helicobacter pylori*, la causa más frecuente de gastritis. Dado que el FEG no es específico es difícil saber si constituye una manifestación de EC. Sólo en aquellos casos en los que se encuentran granulomas de aspecto sarcoideo, rasgo histológico característico de la EC, podría considerarse como manifestación superior de EC en los pacientes afectados. Cuando aparecen granulomas en la biopsia gástrica deben excluirse en el grupo adulto la sarcoidosis, la granulomatosis de Wegener y otro tipo de vasculitis. En la edad pediátrica, debe considerarse la enfermedad granulomatosa crónica infantil[10]. Se trata de una enfermedad hereditaria rara debida a la falta de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidasa. La ausencia de esta enzima en los macrófagos afectados se traduce en la imposibilidad de formar sustancias superóxidas con función bactericida, favoreciendo las infecciones crónicas.

**Apéndice cecal**

La inflamación granulomatosa en las muestras de apendicectomía es un acontecimiento poco frecuente que se produce en aproximadamente el 2 % de todas las piezas resecadas. En este contexto, sólo entre el 5 y el 10 % de los casos desarrollan EC[11].

La mayoría de las apendicitis granulomatosas, hasta un 50 %, corresponden a los casos de apendicectomía de intervalo (diferida), en los que la apendicectomía se retrasa de 4 a 8 semanas desde el episodio agudo[12]. Esta circunstancia es una práctica habitual cuando el apéndice se presenta con una perforación y la cirugía se retrasa tras un tratamiento con antibioterapia, con o sin drenaje. Esta condición produce cambios histológicos que pueden ser mal interpretados como EC por la presencia de inflamación linfocítica transmural, fibrosis y engrosamiento mural, granulomas e inflamación xantogranulomatosa. Otras causas de apendicitis granulomatosa se resumen en la Tabla 1[13].

**Tabla 1.** Causas de apendicitis granulomatosa.

| | | % |
|---|---|---|
| Apendectomía diferida | | 50 % |
| EII | | 5-10 % |
| Enfermedad de Crohn | | |
| Colitis ulcerosa | | |
| Infecciones | | |
| Virus | Virus del sarampión | |
| Bacterias | *Yersinia enterocolitica* | 25 % |
| | *Yersinia pseudotuberculosis* | |
| | *Mycobacterium tuberculosis* | |
| | *Actinomyces* | |
| Hongos | *Candida* | |
| Helmintos | *Enterobius vermicularis* | |
| | *Strongyloides stercolaris* | |

**Intestino delgado y colon**

El íleon terminal es el lugar característico de afectación de la EC, descrita originalmente como ileítis granulomatosa. En más del 40 % de los casos el proceso afecta al colon, especialmente al lado derecho, con o sin afectación ileal concomitante.

Al principio de la enfermedad, en el intestino delgado, aparece una inflamación linfocítica con agregados prominentes en la mucosa y submucosa. Los agregados prominentes erosionan el epitelio superficial dando las típicas lesiones aftosas que se observan en la endoscopia y dejando entre ellas mucosa no afectada.

Otra lesión característica es la presencia de ulceración con fisuras. En esta afección la mucosa normal, con criptas que conservan la mucosecreción, se ve bruscamente alterada por una inflamación linfocítica que penetra profundamente en la submucosa y en las capas musculares de la pared intestinal dando una afectación transmural. El rasgo histológico que caracteriza a la EC es el granuloma epitelioide. Este granuloma de aspecto sarcomatoide está constituido por células histiocíticas rodeadas de linfocitos. También pueden estar presentes células gigantes multinucleadas. La necrosis suele estar ausente. Los granulomas, que aparecen en el 40-60 % de los casos, pueden estar presentes tanto en zonas inflamadas como sanas. Además, pueden aparecer en cualquier lugar de la pared intestinal, siendo más frecuentes en la submucosa. La presencia de granulomas no es patognomónica de EC. Deben descartarse otras afecciones, como la sarcoidosis, y las infecciones, especialmente las causadas por especies de Yersinia y *Mycobacterium tuberculosis*. Los granulomas epitelioides de la EC también deben distinguirse de los granulomas criptolíticos presentes en la CU, una reacción granulomatosa a cuerpo extraño como respuesta de la mucina de las criptas rotas.

Progresivamente, el tejido de granulación sustituye a las zonas dañadas. Posteriormente, el tejido de granulación es sustituido por fibrosis y la mucosa se reepiteliza. Los episodios sucesivos de inflamación aguda añaden más y más fibrosis en la pared intestinal que se convierte en una tina rígida y gruesa. Groseramente, la mucosa muestra un aspecto empedrado con afectación discontinua y con fisuras que recorren longitudinalmente grandes distancias. En medio, la mucosa está edematosa, pero, en general, bien conservada. Otros eventos que ocurren en este proceso son la hipertrofia de fibras musculares tanto de la muscularis mucosae como de la muscularis propia que se fusiona con la submucosa fibrótica, así como la hiperplasia de fibras nerviosas tanto del plexo de Auerbach como del plexo de Meissner.

En la fase avanzada de la enfermedad es fácil encontrar cambios crónicos a varios niveles de la pared intestinal. En la mucosa, la arquitectura vellositaria se pierde por la cantidad de fibrosis en el intestino delgado. En el colon, las criptas presentan anomalías arquitectónicas. Estas alteraciones son la distorsión de las criptas, caracterizada por criptas de diámetro variable que han perdido la disposición paralela normal, y adquieren cambios quísticos; las criptas se ramifican y acortan, y hay una disminución de la densidad de las criptas, e irregularidades en la superficie de la mucosa. Se observa epitelio metaplásico, muy frecuentemente glándulas pilóricas mucinosas en el íleon terminal y células de Paneth en el colon izquierdo o distal. Aunque la EC es un proceso inflamatorio crónico no hay plasmocitosis basal en la mucosa colónica, una característica típica de la CU, y un elemento útil para distinguir ambas entidades. La plasmocitosis basal se define como una cantidad de células plasmáticas y linfocitos en el extremo de las criptas que las separa de la muscularis mucosae (FOTO). El crecimiento exagerado de la fibrosis en la lámina propia produce la formación de pseudopólipos que sobresalen en la luz intestinal.

En algunos casos, los pseudopólipos son tan abundantes y prominentes que sustituyen difusamente a la mucosa. Esta afección se conoce como poliposis filiforme y constituye una complicación en el curso de la EC con tendencia a ocluir la luz y a sufrir degeneración maligna[14].

Al final, el intestino se convierte en un tubo rígido y grueso con una luz estrecha.

### Recto

La afectación rectal es un dato distintivo de la CU y una característica muy útil para distinguir la CU de la EC. Sin embargo, es importante tener en cuenta que en determinadas circunstancias la mucosa rectal podría presentar escasas alteraciones histológicas dando lugar a un diagnóstico erróneo de EC como ocurre en pacientes pediátricos, en el curso de colitis fulminante y también por los efectos de los tratamientos tanto tópicos como orales[15]. Para evitar un diagnóstico erróneo entre EC y CU es necesario analizar microscópicamente muestras del área rectal para excluir lesiones de colitis incluso en aquellos casos de mucosa endoscópicamente normal.

### Ano

Entre las anomalías perianales relacionadas con la EC las más frecuentes son fisuras, papilomas cutáneos, úlceras, fístulas, estenosis y abscesos. El diagnóstico de EC sólo está justificado en aquellos casos en los que se encuentran granulomas de aspecto sarcoide en el examen histológico. Independientemente del tipo de lesión, la enfermedad perianal se considera un predictor significativo de progresión en la EC identificando aquellos pacientes con mayor probabilidad de desarrollar un comportamiento más extenso (ileocolónico) y complicado (estructurante y penetrante) y de hacerlo más rápidamente[16].

Los papilomas cutáneos anales son más frecuentes en pacientes con EC (75 %) que en pacientes con CU (24 %)[17]. En el grupo de EC se encuentran comúnmente en presencia de enfermedad limitada al colon en comparación con enfermedad en otras partes del intestino.

En los pacientes varones infectados por VIH, las fístulas perianales pueden simular una EC[18].

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL ENTRE ENFERMEDAD DE CROHN Y COLITIS ULCEROSA

Aunque la EC y la colitis ulcerosa (CU) comparten la afectación del colon suelen presentarse algunos rasgos característicos que permiten distinguirlas (Tabla 2). La distinción entre ambas entidades es particularmente importante para el tratamiento quirúrgico y el pronóstico. En una minoría de casos, no es posible una diferenciación nítida incluso tras un examen completo de la muestra resecada. Actualmente se recomienda el diagnóstico de «colitis de etiología incierta» (CUTE) para informar de esta situación.[19, 20]

El diagnóstico diferencial entre CU y EC en piezas de resección no tratadas no suele ser difícil. En este escenario, encontrar inflamación transmural con agregados linfoides, granulomas en la submucosa y signos de enfermedad crónica, como fibrosis, hiperplasia de fibras nerviosas submucosas con hipertrofia de capas musculares, favorece el diagnóstico de EC. Es importante tener en cuenta que no existe una única característica diagnóstica para diferenciar estos dos procesos crónicos. Para establecer el diagnóstico de EC no es necesario encontrar granulomas epitelioides, sino que el diagnóstico se basa en una combinación de alteraciones arquitecturales con características inflamatorias. Además, es necesario descartar otras enfermedades colónicas en el diagnóstico de EII (Tabla 3).

**Tabla 2**. Criterios microscópicos para distinguir la EII de otras colitis.

| | |
|---|---|
| **Alteraciones arquitecturales** | |
| | Distorsión de criptas |
| | Criptas arborescentes |
| | Criptas acortadas |
| | Baja densidad de criptas |
| | Superficie mucosa irregular |
| **Caracterísitcas inflamatorias** | |
| | Plasmocitosis basal |
| **Epitelio metaplásico** | |
| | Metaplasia de células de Paneth en el colon |
| | Metaplasia gástrica (seudopilórica) en el intestino delgado y el colon |

**Tabla 3.** Caracteristicas patológicas de la EC y la CU

| | | CU | EC |
|---|---|---|---|
| **Localización** | | Recto<br>Colon | Todo el tracto gastrointestinal |
| **Afectación** | **Mucosa** | Contínua | Discontínua |
| | **Capas de la pared intestinal** | Mucosa<br>Submucosa | Transmural |
| **Endoscopia** | | Ninguna | *Bamboo-Joint Like* |
| **Histología** | **Lesióntípica** | Abscesos crípticos | Granulomas no necrotizantes |
| | **Inflamación** | Células plasmáticas<br>Neutrófilos | Linfocitos |
| | **Otras lesiones** | Seudopolipos | Ulceración<br>Fístula<br>Estenosis<br>Seudopolipos |
| **Complicación** | **Aguda** | Megacolon tóxico | Perforación<br>Oclusión |

**Bibliografía**


1. Feagans J, Victor D, Joshi V. Crohn disease of the esophagus: a review of the literature. South Med J. 2008; 101(9): 927-30. doi: 10.1097/SMJ.0b013e31818047be. PMID: 18708983.

2. Decker GA, Loftus EV Jr, Pasha TM, y cols.Crohn's disease of the esophagus: clinical features and outcomes. Inflamm Bowel Dis. 2001; 7(2): 113-9. doi: 10.1097/00054725-200105000-00006. PMID: 11383583.

3. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, y cols. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. Can J Gastroenterol. 2005;19 Suppl A:5A-36A. doi: 10.1155/2005/269076. PMID: 16151544.

4. Satsangi J, Silverberg MS, Vermeire S, y cols. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. Gut. 2006; 55(6): 749-53. doi: 10.1136/gut.2005.082909. PMID: 16698746; PMCID: PMC1856208.

5. Srivastava A, Lauwers GY. Pathology of non-infective gastritis. Histopathology. 2007; 50(1): 15-29. doi: 10.1111/j.1365-2559.2006.02553. x. PMID: 17204018.

6. Kuriyama M, Kato J, Morimoto N, y cols. Specific gastroduodenoscopic findings in Crohn's disease: Comparison with findings in patients with ulcerative colitis and gastroesophageal reflux disease. Dig Liver Dis. 2008; 40(6): 468-75. doi: 10.1016/j.dld.2008.01.008. Epub 2008 Mar 6. PMID: 18328794.

7. Oberhuber G, Hirsch M, Stolte M. High incidence of upper gastrointestinal tract involvement in Crohn's disease. Virchows Arch. 1998; 432(1): 49-52. doi: 10.1007/s004280050133. PMID: 9463587.

8. Petrolla AA, Katz JA, Xin W. The clinical significance of focal enhanced gastritis in adults with isolated ileitis of the terminal ileum. J Gastroenterol. 2008; 43(7): 524-30. doi: 10.1007/s00535-008-2191-8. Epub 2008 Jul 23. PMID: 18648739.

9. Pascasio JM, Hammond S, Qualman SJ. Recognition of Crohn disease on incidental gastric biopsy in childhood. Pediatr Dev Pathol. 2003; 6(3): 209-14. doi: 10.1007/s10024-002-0601-0. Epub 2003 Mar 28. PMID: 12658540.

10. Ament ME, Ochs HD. Gastrointestinal manifestations of chronic granulomatous disease. N Engl J Med. 1973; 288(8): 382-7. doi: 10.1056/NEJM197302222880802. PMID: 4684040.

11. Huang JC, Appelman HD. Another look at chronic appendicitis resembling Crohn's disease. Mod Pathol. 1996; 9(10): 975-81. PMID: 8902834.

12. Guo G, Greenson JK. Histopathology of interval (delayed) appendectomy specimens: strong association with granulomatous and xanthogranulomatous appendicitis. Am J Surg Pathol. 2003 ; 27(8): 1147-51. doi: 10.1097/00000478-200308000-00013. PMID: 12883248.

13. Bronner MP. Granulomatous appendicitis and the appendix in idiopathic inflammatory bowel disease. Semin Diagn Pathol. 2004; 21(2): 98-107. doi: 10.1053/j.semdp.2004.12.001. PMID: 15807470.

14. Brozna JP, Fisher RL, Barwick KW. Filiform polyposis: an unusual complication of inflammatory bowel disease. J ClinGastroenterol. 1985; 7(5): 451-8. doi: 10.1097/00004836-198510000-00019. PMID: 4067234.

15. Glickman JN, Odze RD. Does rectal sparing ever occur in ulcerative colitis? Inflamm Bowel Dis. 2008 ; 14 Suppl2: S166-7. doi: 10.1002/ibd.20592. Erratum in: Inflamm Bowel Dis. 2009 Sep;15(9):1438-47. PMID: 18816786.

16. Tarrant KM, Barclay ML, Frampton CM, y cols. Perianal disease predicts changes in Crohn's disease phenotype-results of a population-based study of inflammatory bowel disease phenotype. Am J Gastroenterol. 2008; 103(12): 3082-93. doi: 10.1111/j.1572-0241.2008.02212.x. PMID: 19086959.

17. Bonheur JL, Braunstein J, Korelitz BI, y cols. Anal skin tags in inflammatory bowel disease: new observations and a clinical review. Inflamm Bowel Dis. 2008; 14(9): 1236-9. doi: 10.1002/ibd.20458. PMID: 18452201.

18. Rivera M, Angelucci E, Crispino P, y cols. Perianal fistulas mimicking Crohn's disease in HIV-infected male patient. Am J Gastroenterol. 2009; 104(3): 793-4. doi: 10.1038/ajg.2008.98. Epub 2009 Feb 3. PMID: 19262533.

19. Geboes K, Colombel JF, Greenstein A, y cols. Pathology Task Force of the International Organization of Inflammatory Bowel Diseases. Indeterminate colitis: a review of the concept--what's in a name? Inflamm Bowel Dis. 2008; 14(6): 850-7. doi: 10.1002/ibd.20361. PMID: 18213696.

20. Geboes K, Van Eyken P. Inflammatory bowel disease unclassified and indeterminate colitis: the role of the pathologist. J Clin Pathol. 2009;62(3): 201-5. doi: 10.1136/jcp.2008.059311. Epub 2008 Oct 24. PMID: 18952692.

# Enfermedad Inflamatoria Intestinal: Colitis indeterminada

**Jordi Tarragona Foradada**
*Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitari Arnau de Vilanova, Lleida*

## DEFINICIÓN

En la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), llamamos colitis indeterminada a aquellos casos en los que, en base a los datos histológicos y clínicos, no se puede confirmar un diagnóstico definitivo de colitis ulcerosa o de enfermedad de Crohn.

No se trata de una entidad específica ni tiene criterios diagnósticos definidos[1].

Es un diagnóstico provisional en un 10 % de los casos de EII, aunque la mayoría de ellos, durante su evolución, será etiquetado de uno de los dos subtipos.

En cuanto a la terminología, colitis indeterminada es un término confuso ya que se utiliza también en casos de otras colitis crónicas no filiadas y que no se engloban dentro de la EII. Se puede usar también el término EII, no clasificada.

## DIAGNÓSTICO

Es un diagnóstico de exclusión, que debería ser utilizado únicamente en piezas quirúrgicas en las que no se puede definir si se trata de una enfermedad de Crohn o una colitis ulcerosa, o cuando hay contradicción con los datos clínicos o radiológicos.

No se debe usar en casos de colitis ulcerosa tratada, de larga evolución, segmentaria, fulminante, con ileítis por reflujo o enfermedad de Crohn superficial. Tampoco debe utilizarse en caso de una colitis concomitante: infecciosa, isquémica o microscópica.

Dado que la variante segmentaria de la colitis ulcerosa es prevalente en edades pediátricas, la colitis indeterminada se diagnosticará con frecuencia en la infancia.

Los datos analíticos de laboratorio son poco útiles para el diagnóstico de colitis indeterminada. El 50 % de los pacientes tienen negatividad para los anticuerpos ASCA y pANCA[2].

### Hallazgos macroscópicos

La pieza quirúrgica suele ser una pieza de colectomía tipo colitis ulcerosa que muestra inflamación continua de la mucosa, pero con alguna característica de enfermedad de Crohn: mucosa rectal respetada, lesiones saltatorias en colon proximal, afectación de intestino delgado, fisuras, engrosamiento de la pared o mucosa en «empedrado»[3].

Hay que tener en cuenta que una pieza de colectomía con afectación de colon descendente que presenta afectación cecal o periapendicular puede ser una variante de la colitis ulcerosa y no debe clasificarse como colitis indeterminada[1, 5].

**Hallazgos microscópicos**

En el estudio microscópico se pueden identificar alguno o varios de los siguientes hallazgos, que se describen también en la EII usual:

- Inflamación mucosa activa en forma de criptitis, abscesos críticos o ulceración[4, 5]
- Inflamación crónica de la mucosa en lámina propia
- Lesión crónica en forma de metaplasia de células de Paneth[5]
- Hallazgos compatibles con colitis ulcerosa y que no apoyan el diagnóstico de enfermedad de Crohn ni de colitis indeterminada: granulomas de cripta o ileitis retrógrada[1]
- Características microscópicas diagnósticas de enfermedad de Crohn: afectación segmentaria, recto respetado, agregados linfoide transmurales, fisuras o fístulas, granulomas no necrotizantes, afectación de intestino delgado (no por reflujo) o lesión perianal[1,4]
- Presencia de granulomas no necrotizantes en la mucosa o en los ganglios de una pieza quirúrgica sugestiva de colitis ulcerosa. Es la llamada enfermedad de Crohn superficial (*colitis ulcerosa-like*)

En el diagnóstico diferencial, aparte de descartar el diagnóstico categórico de colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn, debemos tener presente algunas patologías que pueden confundirse histológicamente con colitis indeterminada:

- Colitis isquémica
- Colitis por derivación
- Colitis asociada a enfermedad diverticular

**INFORME DE ANATOMÍA PATOLÓGICA DE COLITIS INDETERMINADAS**

En los informes debe constar la localización anatómica de la pieza quirúrgica con el procedimiento quirúrgico.

En el apartado diagnóstico se recomienda informar como: «colitis crónica activa severa», añadiendo un comentario en el que se haga constar que, aunque la inflamación es de predominio mucoso, presenta signos sugestivos, aunque no diagnósticos, de enfermedad de Crohn.

Como conclusión, se etiquetará la lesión como Enfermedad inflamatoria intestinal, de tipo indeterminado.

**Bibliografía**

1. Odze, RD. A contemporary and critical appraisal of 'indeterminate colitis' Mod Pathol 2015: 28Suppl 1: S30-46. doi: 10.1038/modpathol.2014.131

2. Joossens S, Reinisch W, Vermeire S, y cols. The value of serologic markers in indeterminate colitis: a prospective follow-up study Gastroenterology 2002; 122(5): 1242-7. doi: 10.1053/gast.2002.32980

3. Martland GT, Shepherd NA. Indeterminate colitis: definition, diagnosis, implications and a plea for nosological sanity Histopathology 2007; 50(1): 83-96. doi: 10.1111/j.1365-2559.2006.02545.x.

4. Guindi M, Riddell RH. Indeterminate Colitis J Clin Pathol 2004; 57(12): 1233-44. doi: 10.1136/jcp.2003.015214.

5. Geboes K, Van Eyken P. Inflammatory bowel disease unclassified and indeterminate colitis: the role of the pathologist J Clin Pathol 2009; 62(3): 201-5. doi: 10.1136/jcp.2008.059311. Epub 2008 Oct 24.

# Enfermedad Inflamatoria Intestinal: Citomegalovirus en la enfermedad inflamatoria intestinal crónica

**Rebeca Fernández Victoria**
*Médico adjunto. Unidad de patología digestiva. Servicio de Anatomía patológica Hospital Álvaro Cunqueiro. Vigo*

El citomegalovirus (CMV) es un agente infeccioso perteneciente a la familia *Herpes viridae* cuyo genoma está formado por una doble cadena de ADN.

La infección por CMV es relativamente frecuente en el ser humano con una prevalencia en la población general que varía entre 40-100 %. La primoinfección por CMV es subclínica en la mayoría de los pacientes inmunocompetentes, pero en una proporción de los mismos, la infección primaria puede manifestarse como un cuadro febril, además de fatiga, adenopatías y un síndrome similar al que se presenta en la infección por virus de Epstein Barr[1].

Sin embargo, en los pacientes inmunodeprimidos, las manifestaciones a causa de la infección son más relevantes y se han de tener en cuenta.

La inmunidad celular, especialmente las células citolíticas naturales y el interferón, juegan un papel importante en la primoinfección y en su control posterior.

Tras la infección primaria y la respuesta inmunológica inicial, el CMV permanecerá latente en diferentes células, además de presente en algunos órganos como en el colon. Durante el proceso de latencia, el genoma del CMV tiene una expresión viral mínima. Con la reactivación, inducida por estados de inflamación o inmunosupresión se comienzan a producir nuevas partículas virales.

En el grupo de población más susceptible a que las infecciones por CMV produzcan mayor morbimortalidad, se encuentran como hemos dicho, pacientes inmunocomprometidos, con alteración de la inmunidad, por ejemplo, aquellos sometidos a tratamientos inmunosupresores como los utilizados en los procesos inflamatorios crónicos, tales como EII.

Se habla de infección por CMV cuando la persona ha estado en contacto con el virus y como consecuencia, presenta una serología positiva Ig M-CMV en el inicio y una IgG -CMV posteriormente. A pesar de ello, la definición de infección por CMV es heretogénea en la literatura publicada.

El primer caso reportado de infección por CMV en un paciente con EII tipo Colitis ulcerosa fue en 1961, descrito por Powell y cols.[2]

**HECHOS A TENER EN CUENTA**

- En general, se considera infección por CMV cuando existe una detección de PCR sobre tejido de más de 10 copias /reacción PCR.
- La incidencia de CMV en pacientes con EII varia entre 0,53-3,4 %. En la enfermedad de Crohn es más baja[3].
- La prevalencia de CMV reportada en colitis ulcerosa es variable (entre 2-38 %) En los casos de colitis ulcerosa grave severa el porcentaje es mayor (21-34 %). La prevalencia de infección latente por CMV en EII puede variar entre 45-100 % de los casos.
- Se considera que existe enfermedad por CMV, cuando el virus causa daño tisular con presencia de síntomas locales y/o sistémicos.
- La colitis por CMV, que generalmente corresponde a una reactivación de la enfermedad, es rara en pacientes inmunocompetentes.
- Se ha demostrado asociación entre la infección por CMV y la exacerbación de la EII, su grado de severidad y su evolución[4].
- Existen mayores ratios de CMV IgM, Ag CMV y presencia de ADN del CMV en sangre o en tejido colónico en pacientes con EII grave, con respecto a los controles sanos.
- Además, hay mayor prevalencia de tejido con CMV con PCR positiva en pacientes con ulceraciones secundarias a EII más que en pacientes con úlceras debido a otras etiologías.
- En la colitis ulcerosa aguda severa, se describe mayor presencia de ADN tisular y CMV en el examen histológico e IHQ que en pacientes con menor grado de afectación por EII.
- La severidad de la colitis ulcerosa con úlceras irregulares/ perforadas se asocia a mayor número de inclusiones intranucleares visibles con H-E y/o con IHQ positiva en tejido[5].
- Los pacientes con colitis aguda severa e infección por CMV son más resistentes al tratamiento con corticoides que los pacientes no infectados.
- La presencia de más de 250 copias /mg de tejido (PCR frente a CMV) puede predecir la resistencia a tratamiento con esteroides e inmunodepresores.
- La presencia de pacientes con PCR positiva para CMV o mayor grado de colitis por CMV (definida por la presencia de cuerpos de inclusión o IHQ positiva en biopsia), incrementan el riesgo de colectomía.
- Los pacientes con mayor grado de colitis por CMV pueden responder al tratamiento antiviral y así disminuír el riesgo de una colectomía.
- Los pacientes con abundante CMV en tejido pueden responder a tratamiento antiviral sin tratamiento adicional para EII, mientras que los pacientes con menor cantidad de virus podrían beneficiarse de un tratamiento intensificado para la EII.

**MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE LA INFECCIÓN POR CMV**

Los métodos disponibles para el diagnóstico inicial de CMV incluyen: histología e IHQ, serología, PCR en sangre o en tejido intestinal y detección de pp65 Ag CMV

El problema fundamental es diferenciar entre una exacerbación aguda de la EII y unac por CMV. Ambas pueden presentar cuadros clínicos similares. Aunque algunos hallazgos endoscópicos son más característicos en uno u otro caso, ninguno es patognomónico.

Además de ello, también es necesario distinguir entre enfermedad por CMV e infección por CMV, como ya se comentó previamente.

La sensibilidad de detección de IgM serológica en enfermedad por CMV es del 15-60 %.

El estudio de pp65AG CMV en leucocitos circulantes alcanza una sensibilidad de 60-100 % y una especificidad para la infección por CMV del 83-100 %.

Aunque la presencia de Ag no se correlaciona con la detección de CMV en tejido colónico en pacientes con EII, en un estudio reciente en Corea[6] parece describirse sin embargo una buena

correlación entre la detección de Ag CMV y Colitis por CMV (definida por la presencia de cuerpos de inclusión o IHQ)

La PCR de CMV en sangre detecta y cuantifica el CMV con alta sensibilidad y especificidad (65-100 %, y 40-92 %, respectivamente)

A pesar de ellos, en la literatura en casos de EII, los métodos de elección para diagnóstico de CMV serian: H-E, IHQ, y PCR en tejido, más que cualquiera de los anteriores métodos descritos.

Los hallazgos en H-E en paciente con infección por CMV son muy característicos, con células agrandadas, engrosamiento de la membrana nuclear y presencia de inclusiones intranucleares basófilas («cuerpos de inclusión»), que representan la replicación activa del CMV e indican Colitis por CMV[7].

La hematoxilina-eosina tiene una alta especificidad (92-100 %) pero la sensibilidad es más baja (oscila entre 10-87 %) y depende de la zona de toma de muestra, número de muestrasrecibidas, representación. Se recomienda la toma de biopsias en la zona de la base de la úlcera, donde el virus suele detectarse mejor.

El número de biopsias puede incrementar la sensibilidad en la H-E y mejorar los resultados tanto de IHQ como de PCR tisular.

Se recomienda un número mínimo de 11 fragmentos/muestra en CU y 16 en el caso de enfermedad de Crohn.

La inmunohistoquímica es importante a la hora de la rutina de evaluación de pacientes con EII con enfermedad severa antes de cambiar la medicación o incluso de un planteamiento quirúrgico.

La guias más recientes ECCO coinciden en el uso de H-E e IHQ, dando especialmente importancia a la presencia de inclusiones de H-E.

De hecho, el significado clínico de una PCR positiva en tejido colónico para CMV sin alteraciones histológicas o IHQ acompañantes, no permite aclarar la actitud a seguir.

Se considera PCR positiva en tejido para CMV si se detectan más de 250 copias/mg de tejido.

La inmunohistoquímica actualmente se considera «*la prueba de referencia*» y debería realizarse en todas las muestras con sospecha en las que la H-E no revela la presencia de cuerpos de inclusión virales.

La definición del grado de infección por CMV es variable; sin embargo, parece que el consenso reciente es que se define alto grado de infección por CMV, si hay más de 5 cuerpos de inclusión en H-E / IHQ mientras que el bajo grado de infección, se definiría por la presencia de menos de 5 cuerpos de inclusión en H-E /IHQ.

En cuanto a la PCR no existe una norma estándar para esta definición.

Es importante definir la presencia de más de 5 cuerpos de inclusión con positividad inmunohistoquímica / campo de gran aumento (que se consideraría alta densidad de infección como hemos visto) porque si se emplea tratamiento antiviral, la necesidad de colectomía al año de seguimiento parece disminuir[8].

Las recomendaciones de la ECCO 2021 recuerdan que en pacientes con EII refractaria a tratamiento debe descartarse la presencia de infección por CMV si no responden a los tratamientos inmunosupresoress[8].

**CONCLUSIONES**

- Se debe sospechar enfermedad por CMV gastrointestinal en EII:
  - En casos de Colitis activa y ulcerosa refractaria a tratamiento con imnmunosupresores y presencia de úlceras profundas en la endoscopia.

- La enfermedad por CMV gastrointestinal en EII se debe confirmar con:
  - Histologia: identificación de inclusiones virales
  - Inmunohistoquímica: positividad para tinción específica de CMV
  - PCR tisular: positividad para CMV
  - Otras: serología (IGM), Ag en sangre o PCR en sangre.
- Alto grado de infección:
  - Presencia de inclusiones en H-E
  - Positividad en IHQ (más de 5 núcleos positivos/CGA)
  - PCR cuantitativa: más de 250 copias/mg de tejido

**Bibliografía**


1. Siegmund B. Cytomegalovirus infection associated with inflammatory bowel disease. Lancet Gastroenterol Hepatol. 2017; 2[5]: 369–76.
2. Powell RD, Warner NE, Levine RS, y cols. Cytomegalic inclusion disease and ulcerative colitis; report of a case in a young adult. Am J Med. 1961; 30[2]: 1373–.79.
3. Cannon MJ, Schmid DS, Hyde TB. Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. Rev Med Virol. 2010; 20[4]: 202–13.
4. Kuwabara A, Okamoto H, Suda T, y cols. Clinicopathologic characteristics of clinically relevant cytomegalovirus infection in inflammatory bowel disease. J Gastroenterol. 2007;42[10]: 823–9.
5. Wethkamp N, Nordlohne EM, Meister V, y cols. Identification of clinicallyrelevant cytomegalovirus infections in patients with inflammatorybowel disease. Mod Pathol. 2018; 31[3]: 527–38.
6. Kim YS, Kim YH, Kim JS, y cols. IBD Study Group of the Korean Association for the Study of Intestinal Diseases (KASID), Korea. Cytomegalovirus infection in patients with new onset ulcerative colitis: a prospective study. Hepatogastroenterology. 2012; 59[116]: 1098–101.
7. Criscuoli V, Rizzuto MR, Montalbano L, y cols. Natural history of cytomegalovirus infection in a series of patients diagnosed with moderate-severe ulcerative colitis. World J Gastroenterol. 2011; 17[5]: 633–8.
8. Kucharzik T, Ellul P, Greuter T, y cols. ECCO guidelines on the prevention, diagnosis, and management of infections in inflammatorybowel disease. J Crohns Colitis. 2021; 15[6]: 879–913.

# Actualización diagnóstica en gastritis atrófica

**Ana Teijo[1], Stefania Landolfi[2], Irene Amat[3], Jordi Tarragona[4], Miriam Cuatrecasas[5]**

1. *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid*
2. *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Vall d'Hebrón, Barcelona*
3. *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario de Navarra,*
4. *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Arnau Vilanova, Lleida*
5. *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínic de Barcelona*

## DEFINICIÓN DE GASTRITIS ATRÓFICA

La gastritis crónica atrófica (GCA), también conocida como gastritis atrófica (GA), es una enfermedad crónica causada por múltiples factores. Se caracteriza principalmente por la pérdida definitiva de las glándulas de la mucosa gástrica.

## HALLAZGOS CLÍNICOS

La gastritis atrófica puede ser asintomática, pero cuando se desarrollan síntomas, destacan:

- Síntomas gastrointestinales: pirosis, regurgitación o dispepsia
- Cuando se reduce de forma marcada la secreción de ácido, puede desarrollarse clínica secundaria a ferropenia como signo precoz
- Clínica de anemia perniciosa por déficit de vitamina B12 secundaria a falta de producción de factor intrínseco
- Anemia microcítica por déficit de hierro
- Anemia macrocítica por déficit de vitamina B12
- Hipergastrinemia secundaria a aclorhidria por pérdida de células parietales

## PRUEBAS COMPLEMENTARIAS DIAGNÓSTICAS

- Diagnóstico por imagen con fluoroscopia gástrica con bario, aunque puede ser indetectable cuando la afectación es leve o parcheada. En los casos de atrofia severa se observa un estómago estrecho de contornos lisos y con pérdida de pliegues (1).
- Estudios analíticos: según el tipo de gastritis podemos encontrar alguno o varios de los siguientes hallazgos: déficit de hierro, déficit de vitamina B12, gastrinemia elevada, disminución del pepisinógeno I en suero y de la relación pepsinógeno I/pepsinógeno II y/o positividad en la detección de anticuerpos anti-factor intrínseco y anti-célula parietal (2).
- Endoscopia: los endoscopistas han tratado de establecer escalas para gradar la extensión de la MI en función de los hallazgos endoscópicos (sistema EGGIM [endoscopic grading of gastric intestinal metaplasia]). Las técnicas endoscópicas actuales han mejorado considerablemente respecto a los endoscopios convencionales de luz blanca. Actualmente se ha conseguido mejorar la precisión en la selección de las zonas adecuadas para la toma de biopsias, que deben ser las que representen el estadio más avanzado en la carcinogénesis de la mucosa… Actualmente, la técnica endoscópica con mejores resultados es la endoscopia de luz blanca de alta definición asociada a cromoendoscopia virtual que mejora la especificidad y la precisión diagnóstica.

## CLASIFICACIÓN DE LAS GASTRITIS ATRÓFICAS

Atendiendo a las formas fisiopatológicas podemos clasificar las gastritis atróficas en dos grupos:

- Gastritis atrófica de origen ambiental o gastritis atrófica antral
- Gastritis atrófica de origen autoinmune o gastritis atrófica corporal y fúndica

Por otro lado, independientemente de la de fisiopatología y según su extensión, la GA se puede clasificar en **gastritis atrófica focal o difusa**.

En 2002 el «OLGA reasearch group» redefinió el concepto de gastritis crónica atrófica reconociendo dos tipos, que pueden coexistir (3,4):

- **Atrofia asociada a metaplasia:** es el fenotipo más fácilmente reconocible de la transformación atrófica de la mucosa gástrica, tanto a nivel antral como oxíntico. Por definición, las glándulas con **metaplasia intestinal (MI)** representan atrofia cuando el cambio metaplásico afecta toda la longitud de la unidad glandular nativa. Los cambios metaplásicos restringidos al segmento foveolar de las glándulas gástricas no se consideran secundarios a atrofia. Los focos dispersos de células caliciformes localizados en la superficie foveolar no son infrecuentes en la mucosa gástrica de pacientes con y sin gastritis por *H. pylori* y deben ser informados como MI parcial (restringida a la foveola). Cuando es más extensa, la MI se asocia a un perfil irregular de la glándula (3).
  Con frecuencia, también se observa un **aumento de matriz extracelular** entre las glándulas metaplásicas. Sin embargo, en algunos casos, las glándulas metaplásicas pueden estar agrupadas de manera muy compacta y con una cantidad mínima de tejido conjuntivo interglandular.
  En la mucosa oxíntica, las glándulas nativas pueden ser reemplazadas por una invaginación de células mucosas del cuello o por glándulas secretoras de moco similares a las que se encuentran en la región antro-pilórica distal (**metaplasia seudo-pilórica**) (5). Estos cambios se observan con mayor frecuencia en la etapa avanzada de la gastritis autoinmune y a menudo están asociados a hiperplasia de células neuroendocrinas (6)**.**
  En la zona de transición antrocorporal, particularmente en la región de la incisura angularis, puede ser difícil diferenciar entre una gastritis antral no atrófica y una gastritis atrófica de la mucosa oxíntica asociada a metaplasia seudopilórica. La extensión proximal del fenotipo antral con el aumento de la edad puede dificultar el reconocimiento de la atrofia sin metaplasia

intestinal en esta mucosa de transición. En las muestras de biopsias tomadas en esta área, la detección de metaplasia intestinal se considera un marcador adecuado de atrofia gástrica.

- **Atrofia no asociada a metaplasia** acompañada por fibrosis o proliferación fibromuscular en la lámina propia. A pesar de su relevancia epidemiológica y clínica, se han generado dudas sobre la existencia de atrofia gástrica antral no asociada a metaplasia intestinal. Un estudio morfométrico validó tanto la definición como la clasificación de la GA, incluso en ausencia de cambios metaplásicos (7). La alteración morfológica más sensible y fácilmente reconocible para identificar esta variante de atrofia gástrica es el número de cortes transversales glandulares detectados a un aumento de 40x. En la mucosa antral, disminuyen los pliegues generados por la ramificación de cada canal foveolar, con una expansión concomitante del tejido conjuntivo interglandular. En la mucosa del cuerpo, los túbulos oxínticos nativos se acortan y los espacios interglandulares se ensanchan.
  En los casos severos, la mucosa del cuerpo puede perder cualquier parecido con su arquitectura original y adoptar una apariencia idéntica a la del antro normal. En tales casos, solo la información topográfica exacta proporcionada por el endoscopista permitirá realizar un diagnóstico de atrofia (3).

Cabe recordar que cuando existe un infiltrado inflamatorio marcado en la lámina propia (frecuentemente asociado a agregados o folículos linfoides) puede ser imposible establecer si las glándulas han desaparecido o han sido desplazadas por el infiltrado. En estos casos, para no indicar un seguimiento innecesario de los pacientes, se puede hablar de «**indefinido para atrofia**» y volver a valorar el paciente cuando la inflamación se haya resuelto (8)**.** De todas formas, la presencia de una sola glándula metaplásica, incluso en presencia de un infiltrado inflamatorio marcado, indica la presencia de atrofia subyacente (3).

## TIPOS DE METAPLASIA

### Metaplasia intestinal

La metaplasia intestinal (MI) puede originarse a partir de glándulas antrales mucosecretoras o glándulas oxínticas del cuerpo gástrico. Cuando se origina a partir de estas últimas, la MI puede desarrollarse de novo o a partir de una transformación seudopilórica previa.

La morfología de la célula intestinalizada es fácilmente reconocible debido a la típica célula caliciforme intercalada dentro del epitelio cilíndrico

La **MI se denomina completa** cuando se identifican células caliciformes y enterocitos absortivos con microvellosidadese **incompleta** cuando se presenta una mezcla desordenada de células caliciformes de forma irregular (células mucosas intestinales e inmaduras intermedias).

La MI se ha clasificado en los siguientes tipos:

- **Tipo I** (completa o de tipo intestino delgado), caracterizada por sialomucinas y expresión de la mucina intestinal MUC2 (en el estudio IHQ);
- b) **Tipo II** (incompleta o de tipo colónico), que expresa sialomucinas intestinales (ácidas);
- c) **Tipo III** (incompleta o de tipo colónico), caracterizada por células cilíndricas secretoras de sulfomucinas.

Se considera que el tipo colónico de MI (en particular el tipo III) conlleva un mayor riesgo de progresión a cáncer gástrico; basándose en esta evidencia, se ha recomendado la subtipificación histológica de la MI (9). Sin embargo, datos recientes han reducido significativamente el valor pronóstico de la subtipificación, que puede ser reemplazada de manera confiable por la información pronóstica más precisa proporcionada por la estadificación de la gastritis (10, 11). Existe evidencia que

respalda la posible reversibilidad de la MI con restauración de las unidades glandulares nativas y sus funciones originales (12).

**Metaplasia seudopilórica**

El compartimento gástrico involucrado en la metaplasia seudopilórica es, por definición, la mucosa oxíntica del cuerpo gástrico/fondo. La metaplasia seudopilórica puede progresar hacia la intestinalización (13) o puede revertirse (11) a un compartimento gástrico originariamente poblado por glándulas oxínticas.

**Metaplasia pancreática.**

La presencia de metaplasia pancreática acinar en cuerpo gástrico se considera como específica de la etiología autoinmune. Las células metaplásicas se suelen distribuir desde el cuello hasta el fondo de la mucosa gástrica, pero nunca dentro del epitelio gástrico superficial y foveolar. Suele acompañar a la metaplasia seudopilórica.

## GRADACIÓN DE LA GASTRITIS Y DE LA GASTRITIS ATRÓFICA

**El consenso de Sydney de la clasificación de la gastritis**, publicado en 1990 y actualizado en 1996, representó un hito importante en la comprensión histológica de la gastritis crónica (14,15). Este consenso incorpora cinco parámetros histológicos distintos: actividad neutrofílica, inflamación crónica/infiltración mononuclear, atrofia glandular (AG), metaplasia intestinal (MI) e infección por *H. pylori*. Cada parámetro se debe informar y calificar de forma individual, categorizándolos en cuatro grados: ausente, leve, moderado o marcado. Esta evaluación integral ayuda a la estratificación del riesgo e informa sobre las decisiones de manejo posteriores.

En 2007 se introdujo el **sistema OLGA** (Operative Link on Gastritis Assessment), que trata de clasificar el riesgo de la gastritis crónica. El sistema OLGA se basa en el Consenso de Sydney con ligeras variaciones y evalúa la atrofia y la metaplasia intestinal juntas (16,17). El sistema OLGA representó la primera estrategia para identificar a los pacientes con mayor riesgo de CG. A pesar de su utilidad, el sistema de estadificación OLGA tiene debilidades, incluida su baja reproducibilidad ($\kappa = 0.6$) y su complejidad.

Para resolver este problema, en 2010 se propuso el **sistema OLGIM** (Operative Link on Gastric Intestinal Metaplasia assessment). Esta propuesta se centra únicamente en la evaluación de la gravedad de la MI basándose en la información histológica según el consenso de Sydney, lo que ha mejorado el acuerdo entre patólogos (18).

En las Figuras 1, 2 y 3 se resumen los criterios de estos tres sistemas. **La recomendación actual** es informar la gravedad histológica de la gastritis con el sistema de Sydney e intentar en la medida de lo posible establecer el estadio de riesgo según OLGA y OLGIM, aunque no siempre es posible. Los pacientes en estadio III-IV tienen mayor riesgo de CG.

**Figura 1.** Clasificación de la gastritis según el sistema de Sydney: inflamación aguda, inflamación crónica, gastritis atrófica, metaplasia intestinal y densidad de *H. pylori*.

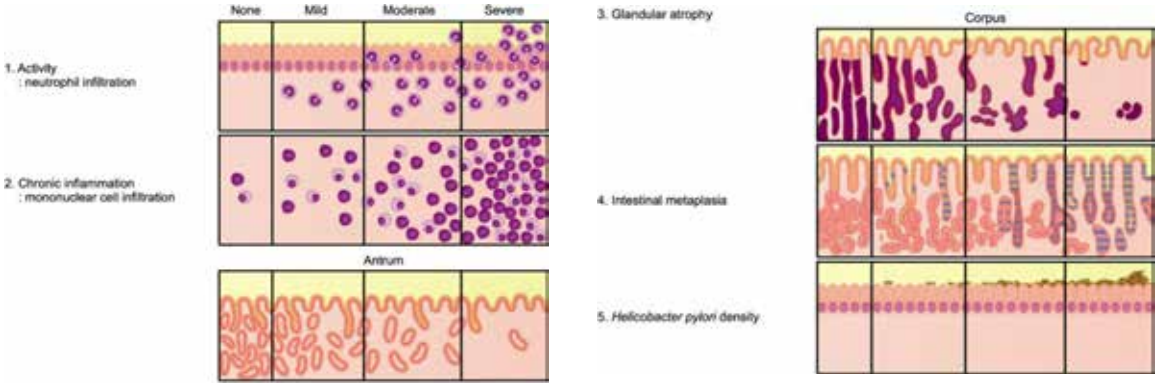



**Figura 2**: Sistema OLGA de estadificación de la gastritis: la atrofia se define como la pérdida de las glándulas normales (con o sin metaplasia). En cada compartimento, mucosa antral/incisura y mucosa oxíntica/cuerpo, la atrofia se puntúa en una escala de cuatro niveles (0-3) de acuerdo con la escala analógica visual del sistema Sydney actualizado. El estadio se determina mediante la combinación de los cambios atróficos evaluados en los dos compartimentos mucosos considerados (16)

| | | Corpus | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Atrophy score | No atrophy (score 0) | Mild atrophy (score 1) | Moderate atrophy (score 2) | Severe atrophy (score 3) |
| Antrum | No atrophy (score 0) (*including incisura angularis*) | Stage 0 | Stage I | Stage II | Stage II |
| | Mild atrophy (score 1) (*including incisura angularis*) | Stage I | Stage I | Stage II | Stage III |
| | Moderate atrophy (score 2) (*including incisura angularis*) | Stage II | Stage II | Stage III | Stage IV |
| | Severe atrophy (score 3) (*including incisura angularis*) | Stage III | Stage III | Stage IV | Stage IV |

**Figura 3**: Sistema OLGIM de estadificación de la metaplasia intestinal. En cada compartimento, mucosa antral/incisura y mucosa oxíntica/cuerpo, la atrofia se puntúa en una escala de cuatro niveles (0-3) de acuerdo con la escala analógica visual del sistema Sydney actualizado. El resultado es un estadio que resulta de la combinación del grado de MI evaluada en los dos compartimentos mucosos considerados (18).

**TABLE 2. Proposal for the OLGIM staging system**

| | | Corpus | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | IM score | Not fat: no IM (score 0) | Mild IM (score 1) | Moderate IM (score 2) | Severe IM (score 3) |
| **Antrum (including incisura angularis)** | No IM (score 0) | Stage 0 | Stage I | Stage II | Stage II |
| | Mild IM (score 1) | Stage I | Stage I | Stage II | Stage III |
| | Moderate IM (score 2) | Stage II | Stage II | Stage III | Stage IV |
| | Severe IM (score 3) | Stage III | Stage III | Stage IV | Stage IV |

*IM*, Intestinal metaplasia; *OLGIM*, operative link on gastric intestinal metaplasia assessment.

A continuación, se resumen las características diferenciales entre los dos tipos generales de gastritis atrófica.

## GASTRITIS CRÓNICA ATRÓFICA DE ORIGEN AMBIENTAL (ANTRAL)

### Epidemiología

La incidencia aumenta con la edad y presenta una prevalencia global mundial con rangos entre el 6 y el 66 % (19).

### Etiología y fisiopatología

La GA de origen ambiental está producida por la infección por H. pylori, que suele afectar al antro. Cuando la infección es de larga evolución puede acabar afectando al cuerpo y el fundus gástrico, dando lugar a una pérdida de células parietales con la aparición de MI. El mecanismo principal del daño celular inducido por H. pylori se atribuye a las acciones de dos elementos genéticos distintos: la citotoxina A vacuolar y la proteína del gen asociado a la citotoxina A (CagA). Un estudio reveló que las tasas de incidencia de cáncer infiltrante fuera del cardias en individuos infectados con H. pylori sin y con expresión de CagA fueron 5,2 y 18,2 veces superiores a los individuos no infectados, respectivamente (20). La infección crónica por H. pylori, la virulencia de las poblaciones bacterianas y la inflamación de la mucosa destruyen gradualmente las glándulas gástricas, lo que finalmente causa una GA multifocal. Además, el uso prolongado de inhibidores de la bomba de protones (IBP) podría inducir o exacerbar el desarrollo de GA en individuos con infección por H. pylori (21).

Otros factores que contribuyen al desarrollo de GA incluyen el consumo excesivo de sal, el tabaquismo crónico y la obesidad. La ingesta excesiva de sal podría aumentar la vulnerabilidad a la infección por H. pylori y el riesgo de desarrollar CG en pacientes con GA, por lo que una dieta pobre en sal podría disminuir el riesgo de desarrollar CG (22, 23). Además, hay evidencias de que la presencia de GA y MI pueden aumentar el riesgo de desarrollo de CG en los hombres fumadores (24). Aunque se ha relacionado la GA con edades avanzadas, algunos estudios han observado un incremento de prevalencia de GA en mujeres más jóvenes (25).

### Histología

La gastritis por *H. pylori* es el ejemplo prototípico de una gastritis ambiental que no se resuelve espontáneamente. La bacteria es fácil de detectar en biopsias gástricas (principalmente en el área foveolar de las muestras antrales). La infección provoca un infiltrado inflamatorio marcado que se establece tempranamente en el estómago distal. La población inflamatoria incluye linfocitos, células plasmáticas, macrófagos y polimorfonucleares. El infiltrado plasmocitario típicamente se dispone en banda en la lámina propia superficial. Los linfocitos pueden organizarse en folículos (más prominentes en la edad pediátrica) y, en algunos pacientes, pueden infiltrar la luz glandular (lesiones linfoepiteliales). Los polimorfonucleares se encuentran tanto en la lámina propia como en la luz glandular (inflamación activa). Este patrón inflamatorio inicial puede progresar con la pérdida de glándulas (atrofia), caracterizada también por un fenotipo intestinalizado, detectable primero en la incisura angularis y en el estómago distal.

Las lesiones inflamatorias se extienden lentamente hacia la mucosa oxíntica (que inicialmente experimenta cambios inflamatorios más leves), lo que lleva a un fenotipo atrófico multifocal que incluye reducción de glándulas, metaplasia seudopilórica y MI. Las lesiones atróficas multifocales están asociadas a deterioro funcional del compartimento de la mucosa oxíntica. Después de tratar con éxito la infección, los cambios metaplásicos suelen revertir lentamente, como se demuestra en estudios clínico-patológicos a largo plazo (26)**.**

## GASTRITIS CRÓNICA ATRÓFICA DE ORIGEN AUTOINMUNE (FÚNDICO-CORPORAL)

### Epidemiología

Es más frecuente en mujeres con una media de edad de presentación de 60,3 años. Tiene una prevalencia de 1-2 % en la población general, aunque puede ser mayor entre mujeres de más de 60 años. Más frecuente en el grupo de población que presenta otras enfermedades autoinmunes, como la tiroiditis autoinmune o la diabetes mellitus tipo 1 (27).

### Etiología y fisiopatología

La gastritis autoinmune es una enfermedad órgano-específica causada por la destrucción mediada por el sistema inmunológico de las células parietales gástricas. El daño a la mucosa oxíntica produce un síndrome clínico caracterizado por hipoclorhidria severa (y eventualmente aclorhidria), anemia perniciosa (debido a la deficiencia de vitamina B12 por la pérdida del factor intrínseco) y malabsorción de hierro. La bomba de protones gástrica actúa como un autoantígeno reconocido por las células T, que activan la producción de anticuerpos anti-células parietales por parte de los linfocitos B. La ausencia de producción de ácido estimula la síntesis de gastrina con hiperplasia de las células antrales productoras.

Por otro lado, al comparar las diferencias en la distribución de la flora gástrica en las GA y controles sin GA se observó que la complejidad, abundancia y diversidad de bacterias en los pacientes con GA estaban disminuidas, siendo aún menor en los pacientes con CG. En la GA, la alteración de la microbiota puede deberse a una disminución del pH inducida por disminución de la secreción de ácido gástrico, que, a su vez, desencadena cambios en el entorno intragástrico (28). Por lo tanto, varios factores histológicos contribuyen a la «pérdida de unidades glandulares nativas» en la GA.

También se ha descrito un proceso autoinmune secundario mediante mimetismo molecular de la subunidad beta de la ureasa del *H. pylori* y la subunidad beta de la ATPasa en las células parietales.

### Histología

El rasgo histológico distintivo de la gastritis autoinmune primaria es su topografía. Desde un punto de vista morfológico (endoscópico e histológico), cualquier enfermedad inflamatoria gástrica restringida al compartimento oxíntico debe considerarse como potencialmente autoinmune. La población de células inflamatorias no difiere notablemente de otras variantes etiológicas de gastritis, aunque el infiltrado neutrofílico suele ser menos prominente y la población eosinofílica, más destacada. También se puede observar una distribución más basal del infiltrado inflamatorio crónico o una afectación en todo el grosor de la mucosa, a diferencia de la gastritis por *H. pylori* donde el infiltrado suele presentarse como una banda superficial. La frecuente aparición de metaplasia seudopilórica puede dificultar la identificación del compartimento del cual se obtuvieron las biopsias. Por ello, la sospecha de una gastritis autoinmune prioriza la identificación endoscópica del sitio de las muestras.

Debido a su aparición clínica tardía, la gastritis autoinmune se ha considerado sinónimo de gastritis atrófica autoinmune. Sin embargo, es importante recordar que la historia natural de esta enfermedad puede también incluir una etapa no atrófica, que suele ser su primera manifestación histológica. La atrofia oxíntica hipoclorhídrica causa una hiperplasia de células ECL (enterocromaffin-like) por el aumento de la concentración de gastrina (13)**.**

## COMPLICACIONES CLÍNICAS DE LAS GASTRITIS ATRÓFICAS

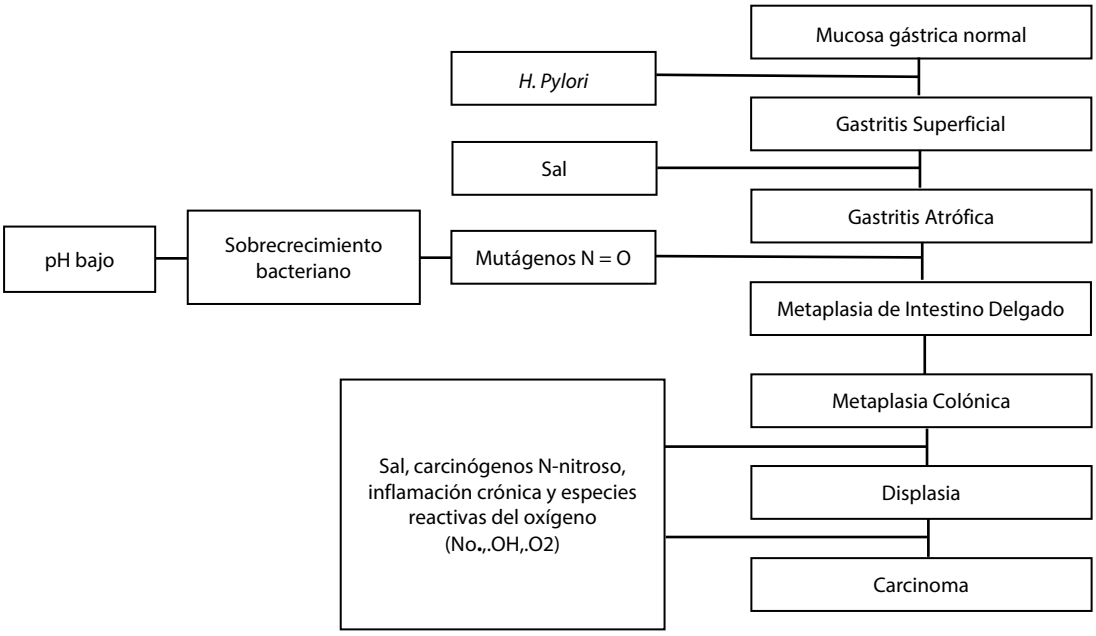
- La GA, bien sea ambiental o autoinmune, supone un factor de riesgo para el desarrollo de CG. El riesgo de transformación maligna es mayor en casos de atrofia difusa y de MI incompleta. El riesgo anual de transformación neoplásica va de 0,1 a 0,3 % (29).
- La GA de origen autoinmune supone un factor de riesgo para las neoplasias neuroendocrinas. Es común encontrar como lesión precursora una hiperplasia de células neuroendocrinas o enterocromafin-like, y de ahí, una minoría de casos progresará y formará pequeños tumores multicéntricos neuroendocrinos, de bajo grado con un riesgo anual que va de 0,4 a 0,7 %.
- La GA de origen autoinmune supone también un factor de riesgo para otras enfermedades autoinmunes, como la tiroiditis autoinmune o la diabetes mellitus tipo 1, con un riesgo 3-5 veces superior al de la población general.

## RELACIÓN ENTRE GASTRITIS ATRÓFICA Y CÁNCER GÁSTRICO

El cáncer gástrico (CG) a menudo se origina por la progresión de la GA a metaplasia intestinal (MI) y finalmente a carcinoma, en parte como resultado directo de la inflamación activa. En este sentido, la GA se considera la fase inicial en un proceso de múltiples etapas que precede al desarrollo del cáncer. A medida que la enfermedad evoluciona, progresa a etapas más graves, incluida la MI y, finalmente, el cáncer. Además, los pacientes con GA podrían experimentar cambios en su microambiente intragástrico, otro fenómeno que podría aumentar el riesgo de desarrollar CG (30) (Figura 4).

Por otro lado, existen evidencias de la relación entre la hipoacidez, sobre todo la asociada a atrofia, y la progresión del CG, lo que apoya la hipótesis de que los CG difusos e intestinales se originan a partir de la atrofia no metaplásica. Tras la atrofia mucosa el microambiente gástrico se remodela a un medio propicio para el desarrollo de CG (31). La atrofia como el «campo canceroso» fundamental para el desarrollo de CG y se está debatiendo el papel de la MI como lesión precancerosa en las etapas iniciales de la carcinogénesis gástrica. Podría haber una sinergia de la interacción entre el microambiente con atrofia inducida por genotoxicidad que puede implicar cambios en la microbiota y la reacción en cascada inflamatoria pro-cáncer inducida por la infección por *H. pylori*.

**Figura 4.** Teoría de Correa sobre la carcinogénesis gástrica humana. Un proceso multifactorial con múltiples etapas. La gastritis comienza como una gastritis superficial y progresa a gastritis atrófica, metaplasia, displasia y cáncer gástrico (Adaptado de Correa P) (32)




## INDICACIONES DE SEGUIMIENTO Y MANEJO CLÍNICO

La Sociedad Europea de Patología junto a otras tres sociedades científicas (33) implicadas en el manejo de los pacientes desarrolló una serie de indicaciones de seguimiento y manejo clínico. Posteriormente (34) estas fueron actualizadas y las recomendaciones mayoritariamente aceptadas para el seguimiento de los pacientes con GA son las siguientes:

- Es imprescindible el diagnóstico histológico de los pacientes con sospecha de GA
- En los pacientes con una GA avanzada no asociada a, *H. pylori,* se recomienda la determinación sérica de pepsinógeno I y/o el cociente pepsinógeno I/ II
- Si el diagnóstico de GA afecta a sólo a la zona antral, de las tres áreas estudiadas según el sistema de toma de muestras Sídney, y es leve o moderada, no es preciso el seguimiento.
- Si el diagnóstico de GA está asociado a MI en una única localización (de las tres áreas estudiadas según el sistema de toma de muestras Sídney), no es preciso el seguimiento.
- Si la GA se asocia a antecedentes familiares de CG en un familiar de primer grado ó a MI incompleta ó a persistencia de la infección por *H. pylori* ó a GA extensa (OLGA/OLGIM 3-4) es necesario el seguimiento del paciente mediante un estudio endoscópico a los tres años.
- Si la GA está asociada a displasia epitelial:
- Si la GA no se asocia a ninguna lesión endoscópica, se recomienda seguimiento a los seis meses mediante cromoendoscopia y toma de biopsias.
- Si la GA se asocia a lesión endoscópica, se recomienda estadiaje y tratamiento.
- Si la GA es autoinmune, secundaria a la presencia de anticuerpos frente a las células parietales, se recomienda seguimiento endoscópico cada 3-5 años ante el riesgo de desarrollo de tumores neuroendocrinos.

## CONCLUSIONES Y AVANCES RECIENTES EN EL DIAGNÓSTICO DE LA GASTRITIS ATRÓFICA

En los últimos años las guías nacionales e internacionales han incorporado importantes actualizaciones en el diagnóstico anatomopatológico de la GA. A nivel internacional, la *American Gastroenterological Association* (AGA) publicó en 2021 una actualización que enfatiza el uso de tecnologías endoscópicas avanzadas como la endoscopia de alta defición (HD-WLE) y la imagen de banda estrecha (NBI) para mejorar la identificación de cambios premalignos en la mucosa gástrica (2). La Asociación Española de Gastroenterología destaca la necesidad de mejorar la adherencia a los protocolos de biopsias y el uso de tecnologías avanzadas para la detección de condiciones premalignas gástricas (35).

En cuanto a los paneles de biomarcadores, varios estudios han valorado el GastroPanel. Se trata de un análisis de sangre que proporciona información sobre la estructura y función de la mucosa del estómago y de los riesgos causados por una posible mucosa anormal. Aunque su sensibilidad para la detección de GA varía, se ha demostrado una alta especificidad, especialmente para la atrofia del cuerpo gástrico. Un estudio multicéntrico en Francia mostró que el GastroPanel tiene una sensibilidad del 39,9 % y una especificidad del 93,4 % para la detección de GA (36).

En cuanto al manejo de la GA y su relación con el microbioma presenta perspectivas prometedoras, tanto en términos de diagnóstico como de tratamiento:

- La resistencia a los antibióticos ha obligado desarrollar tratamientos más eficaces y personalizadas, asi como al uso de probióticos y una dieta rica en fermentados, que ayuda a mantener una microbiota saludable (37).
- Los avances en técnicas moleculares, como la secuenciación del gen 16S rARN, están permitiendo una comprensión más detallada de estas alteraciones microbianas y su relación con las enfermedades gástricas.

Por tanto, el enfoque futuro consiste en identificar patrones específicos del microbioma que puedan servir como biomarcadores para el diagnóstico temprano o como objetivos terapeúticos.

Asimismo, se apunta a la integración futura de técnicas de inteligencia artificial en la endoscopia para automatizar la identificación de patrones atípicos y evaluar lesiones con mayor consistencia. Estos avances, junto con el desarrollo de algoritmos basados en datos moleculares y genómicos, prometen personalizar el seguimiento y tratamiento de los pacientes, orientando la vigilancia hacia aquellos con mayor probabilidad de progresión neoplásica. En definitiva, el panorama actual y futuro del diagnóstico de la gastritis atrófica refleja un enfoque cada vez más preciso, dinámico y adaptado a las necesidades individuales de los pacientes.

En conclusión, esta guía resalta importantes avances en el diagnóstico y manejo de la gastritis atrófica, así como perspectivas futuras que prometen transformar el abordaje clínico de esta enfermedad. La creciente aceptación de los sistemas OLGA Y OLGIM permiten una estratificación más precisa del riesgo de progresión a cáncer gástrico, así como las innovaciones tecnológicas combinadas con nuevas tinciones y marcadores inmunohistoquímicos han elevado significativamente el estándar diagnóstico.

### Bibliografía

1. Rubesin SE, Levine MS, Laufer I Double-contrast upper gastrointestinal radiography: a pattern approach for diseases of the stomach Radiology 2008; 246: 33-48.

2. Shah SC, Piazuelo MB, Kuipers EJ, Li D. AGA Clinical Practice Update on the Diagnosis and Management of Atrophic Gastritis: Expert Review Gastroenterology; 2021: 161: 1325-32.

3. Rugge M., Correa P., Dixon M.F., y cols. Gastric mucosal atrophy: interobserver consistency using new criteria for classification and grading. Aliment Pharmacol Ther 2002; 16: 1249- 59.

4. Delgado-Guillena P, Velamazan-Sandalinas R, Jiménez Sánchez J, y cols. History and clinical guidelines for chronic atrophic gastritis and the assessment of gastric cancer risk. Gastroenterol Hepatol. 2023; 46: 727-31.

5. Wright NA. Migration of the ductular elements of gut-associated glands gives clues to the histogenesis of structures associated with responses to acid hypersecretory state: the origins of gastric metaplasia in the duodenum of the specialized mucosa of Barrett's esophagus and of pseudopyloric metaplasia. Yale J Biol Med 1996; 69: 147–53.

6. Solcia E, Fiocca R, Villani L, y cols. Morphology and pathogenesis of endocrine hyperplasia, precarcinoid lesions, and carcinoids arising in chronic atrophic gastritis. Scand J Gastroenterol 1991; 26: 146–59.

7. Ruiz B, Garay J, Johnson W, y cols. Morphometric assessment of gastric antral atrophy: comparison with visual evaluation. Histopathology 2001; 39(3): 235–42.

8. Genta RM, Lew GM, Graham DY. Changes in the gastric mucosa following eradication of Helicobacter pylori. Mod Pathol. 1993;6(3): 281- 9.

9. Jass JR, Filipe MI. The mucin profiles of normal gastric mucosa, in testinal metaplasia and its variants and gastric carcinoma. Histochem J 1981; 13: 931–9.

10. Rugge M, Fassan M, Pizzi M, y cols. Operative link for gastritis assessment gastritis staging incorporates intestinal metaplasia subtyping. Hum Pathol 2011; 42: 1539–44.

11. Graham DY, Zou WY. Guilt by association: intestinal metaplasia does not progress to gastric cancer. Curr Opin Gastroenterol 2018; 34: 458–64.

12. Rugge M, de Boni M, Pennelli G, y cols. Gastritis OLGA-staging and gastric can- cer risk: a twelve-year clinico-pathological follow-up study. Aliment Pharma- col Ther 2010; 31: 1104–11.

13. Rugge M, Savarino E, Sbaraglia M, Bricca L, Malfertheiner P. Gastritis: The clinico-pathological spectrum. Dig Liver Dis. 2021; 53: 1237-46.

14. Price AB. The Sydney System: histological division. J Gastroenterol Hepatol. 1991; 6: 209–22.

15. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. Am J Surg Pathol. 1996; 20: 1161–81.

16. Rugge M, Meggio A, Pennelli G, y cols. Gastritis staging in clinical practice: The OLGA staging system. Gut. 2007; 56: 631–6.

17. Rugge M, Correa P, Di Mario F, y cols. OLGA staging for gastritis: A tutorial. Dig Liver Dis. 2008; 40: 650–8.

18. Capelle LG, de Vries AC, Haringsma J, y cols. The staging of gastritis with the OLGA system by using intestinal metaplasia as an accurate alternative for atrophic gastritis. Gastrointest Endosc. 2010; 71:1150–8.

19. Ying Y, Liang H, Wei N, Zheng Z. Prevalence of chronic atrophic gastritis worldwide from 2010 to 2020: an updated systematic review and meta-analysis Ann Palliat Med 2022; 11: 3697-703.

20. Kamada T, Haruma K, Ito M, y cols. Time Trends in Helicobacter pylori Infection and Atrophic Gastritis Over 40 Years in Japan. Helicobacter 2015; 20: 192-8. PMID: 25581708 DOI: 10.1111/hel.12193

21. García Rodríguez LA, Lagergren J, Lindblad M. Gastric acid suppression and risk of oesophageal and gastric adenocarcinoma: a nested case control study in the UK. Gut 2006; 55: 1538-44. PMID: 16785284 DOI: 10.1136/gut.2005.086579

22. Thapa S, Fischbach LA, Delongchamp R, Faramawi MF, Orloff M. Association between Dietary Salt Intake and Progression in the Gastric Precancerous Process. Cancers (Basel) 2019; 11. PMID: 30987215 DOI: 10.3390/cancers11040467

23. Song JH, Kim YS, Heo NJ, y cols. High Salt Intake Is Associated with Atrophic Gastritis with Intestinal Metaplasia. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2017; 26: 1133-8. PMID: 28341758 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-16-1024

24. Nieminen AA, Kontto J, Puolakkainen P, Virtamo J, Kokkola A. Long-term gastric cancer risk in male smokers with atrophic corpus gastritis. Scand J Gastroenterol 2019; 54: 145-51. PMID: 30700174 DOI: 10.1080/00365521.2019.1566492

25. Song H, Held M, Sandin S, y cols. Increase in the Prevalence of Atrophic Gastritis Among Adults Age 35 to 44 Years Old in Northern Sweden Between 1990 and 2009. Clin Gastroenterol Hepatol 2015; 13: 1592-600.e1. PMID: 25857683 DOI: 10.1016/j.cgh.2015.04.001.

26. Rugge M, de Boni M, Pennelli G, y cols. Gastritis OLGA-staging and gastric can- cer risk: a twelve-year clinico-pathological follow-up study. Aliment Pharma- col Ther 2010; 31: 1104–11.

27. Massironi S, Zilli A, Elvevi A, Invernizzi P. The changing face of chronic autoimmune atrophic gastritis: an updated comprehensive perspective Autoimmun Rev 2019; 18: 215-22.

28. Parsons BN, Ijaz UZ, D'Amore R, y cols. Comparison of the human gastric microbiota in hypochlorhydric states arising as a result of Helicobacter pylori-induced atrophic gastritis, autoimmune atrophic gastritis and proton pump inhibitor use. PLoS Pathog 2017; 13: e1006653. PMID: 29095917 DOI: 10.1371/journal.ppat.1006653

29. Lenti MV, Rugge M, Lahner E, y cols. Autoinmune gastritis. Nat Rev Dis Primers 2020; 6: 56. doi: 10.1038/s41572-020-0187-8.

30. Yang YJ, Sheu BS. Metabolic Interaction of Helicobacter pylori Infection and Gut Microbiota. Microorganisms 2016; 4. PMID: 27681909 DOI:10.3390/microorganisms4010015].

31. Wang Z, Gao X, Zeng R, y cols. Changes of the Gastric Mucosal Microbiome Associated With Histological Stages of Gastric Carcinogenesis. Front Microbiol 2020; 11: 997. PMID: 32547510 DOI:10.3389/fmicb.2020.00997

32. Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process – First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. Cancer Res 1992; 52: 6735–40.

33. Dinis-Ribeiro M, Areia M, de Vries AC y cols. Management of precancerous conditions and lesions in the stomach (MAPS): guideline from the European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE), European Helicobacter Study Group (EHSG), European Society of Pathology (ESP), and the Sociedade Portuguesa de Endoscopia Digestiva (SPED). Endoscopy 2012; 44: 74–94. doi: 10.1055/s-0031-1291491. Epub 2011 Dec 23. PMID: 22198778

34. Pimentel-Nunes P, Libânio D, Marcos-Pinto R, y cols. Management of epithelial precancerous conditions and lesions in the stomach (MAPS II): European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE), European Helicobacter and Microbiota Study Group (EHMSG), European Society of Pathology (ESP), and Sociedade Portuguesa de Endoscopia Digestiva (SPED) guideline update 2019. Endoscopy. 2019; 51: 365-88. doi: 10.1055/a-0859-1883. Epub 2019 Mar 6. PMID: 30841008

35. Delgado-Guillena PG, Morales-Alvarado VJ, Elosua-González A, y cols. Gastroenterologists' Attitudes on the Detection and Management of Gastric Premalignant Conditions: Results of a Nationwide Survey in Spain. European Journal of Cancer Prevention: The Official Journal of the European Cancer Prevention Organisation (ECP). 2021; 30: 431-6.

36. Chapelle N, Petryszyn P, Blin J, y cols. A Panel of Stomach-Specific Biomarkers (GastroPanel®) for the Diagnosis of Atrophic Gastritis: A Prospective, Multicenter Study in a Low Gastric Cancer Incidence Area. Helicobacter. 2020; 25: e12727.

37. Gao X, Yin P, Ren Y, y cols. Predicting Personalized Diets Based on Microbial Characteristics Between Patients With Superficial Gastritis and Atrophic Gastritis. Nutrients. 2023; 15: 4738.

# Actualización lesiones eosinofílicas en el tracto GI: Introducción

**Elvira González Obeso**
*Hospital Clínico Universitario de Valladolid*

En este capítulo hemos abordado las lesiones eosinofílicas en el tracto gastrointestinal. Se consideran un grupo de enfermedades inflamatorias crónicas inmunomediadas que afectan a diferentes segmentos del tracto digestivo con clínica poco específica, exploración endoscópica anodina e infiltración inflamatoria eosinofílica, en ausencia de otras causas que provoquen eosinofilia.

También se conocen como desórdenes gastrointestinales eosinofílicos (EGIDs) y agrupan 4 entidades: esofagitis eosinofílica, gastritis eosinofílica, enteritis eosinofílica y colitis eosinofílica. Sin embargo, las características únicas de la esofagitis eosinofílica obligan a separarla de las otras.

En la práctica diaria, nuestra capacidad diagnóstica se encuentra limitada por la ausencia de puntos de corte estandarizados y por las variaciones fisiológicas conocidas de la normalidad entre individuos y entre los distintos segmentos del tracto gastrointestinal. Además, es necesario descartar todas las demás causas de eosinofilia.

En este capítulo describimos cada una de ellas de forma que esperamos resulte didáctica y útil.

# Actualización lesiones eosinofílicas en el tracto GI: Esofagitis eosinofílica

**Maria Jesús Fernández-Aceñero**
*Hospital Universitario Clínico San Carlos de Madrid*

## EPIDEMIOLOGÍA

La esofagitis eosinofílica (EEo) es un trastorno inflamatorio crónico esofágico. Esta enfermedad fue descrita a partir de criterios clínicos por Attwood y Straumann en la década de 1990[1,2]. Actualmente se considera una entidad clinicopatológica, que se define por criterios clínicos e histológicos en la biopsia esofágica[3].

Cuando se describió hace menos de tres décadas, la EEo era considerada una enfermedad rara. Sin embargo, en esta última década su prevalencia está aumentando con rapidez en niños y adultos, sobre todo en los países occidentales y ha pasado de 15/100.000 en 2007 a 63/100.000 en 2017[4]. Actualmente se ha convertido en uno los trastornos esofágicos que más repercute en la calidad de vida y la percepción de la salud.

La frecuencia de la enfermedad es triple en varones y predomina de forma clara en la raza blanca. Se asocia a enfermedades alérgicas, incluidas asma, rinitis y eccema. Algunos autores han descrito variabilidad estacional en la aparición de los síntomas, con una probable relación con el aumento del recuento de polen atmosférico y la primavera. Sin embargo, ningún estudio ha demostrado una asociación causal inequívoca entre loa alérgenos aéreos y la aparición de la EEo.

## PATOGENIA

La EEo se considera una enfermedad inflamatoria crónica esofágica de mecanismo inmune mediado por IgE o IgG4 (sobre todo en adultos) o mediada por antígenos presentes en los alimentos[3]. Los síntomas derivan de la disfunción esofágica secundaria a la inflamación mucosa de predominio eosinofílico.

Los antecedentes de un familiar de primer grado afectado aumentan el riesgo de sufrir la enfermedad. Un estudio indica un aumento del riesgo de 64 veces en hermanos de los pacientes y de 43 veces en sus progenitores. Aunque la EEo no se considera una enfermedad hereditaria, se ajusta a un modelo poligénico complejo con gran influencia ambiental[6]. Se ha descrito una posible relación entre los genes que condicionan la función de barrera del epitelio y las respuestas inmunes mediadas por linfocitos T y la aparición de la enfermedad.

## CLÍNICA

La clínica de la EEo es distinta en adultos y niños. En adultos el síntoma más frecuente es la impactación del bolo alimentario y algunos estudios retrospectivos indican que la EEo es la causa de

entre 26 y 46 % de este síntoma en la población adulta[7]. El siguiente síntoma es la disfagia, aunque la EEo es responsable de menos del 20 % de los casos de este síntoma. La probabilidad de EEo es mayor cuando los pacientes tienen disfagia e impactación del alimento, son jóvenes y sobre todo varones y cuando sufren asma[8]. Los síntomas de reflujo y el dolor torácico son mucho menos frecuentes en los pacientes con EEo[9].

Los niños muestran una sintomatología heterogénea, que depende de su edad. Los niños más pequeños tienen síntomas inespecíficos y los mayores suelen referir ya sintomatología referida al esófago. En ese sentido, en los niños menores de 6 años predominan los trastornos de la alimentación con retraso del crecimiento y los vómitos y a partir de los 6 años predomina el dolor abdominal, mientras que la impactación y la disfagia son más frecuentes al aumentar la edad. Las guías recomiendan tener en consideración la edad para interpretar los síntomas y sospechar esta entidad.

## DIAGNÓSTICO

### Endoscopia

La endoscopia está indicada en todos los pacientes con una clínica sugestiva de EEo. Aunque hasta 17 % de los pacientes con EEo confirmada en la histología pueden tener una endoscopia normal, la mayor parte presentan hallazgos específicos. La endoscopia de los pacientes afectados suele revelar surcos, anillos, placas blanquecinas, edema y fragilidad de la mucosa, lo que justifica el aspecto «traquealizado» típico. Estos hallazgos pueden ser sutiles y su sensibilidad es baja, pero la especificidad alcanza el 95 %[10]. Un 93 % de los pacientes con EEo presentan al menos alguna alteración específica de la enfermedad en la endoscopia. Otro dato endoscópico frecuente en la EEo es la reducción del calibre con estenosis esofágica, sobre todo en pacientes con clínica de larga evolución.

### Histología

En los adultos con síntomas sugestivos y endoscopia normal que presentan rasgos endoscópicos de la enfermedad, se debe obtener una biopsia. Si el paciente adulto sufre una clínica característica de enfermedad por reflujo gastroesofágico, pero refractaria al tratamiento con inhibidores de la bomba de protones, no estaría indicada la biopsia salvo que tengan disfagia o atopia, dada la baja prevalencia de EEo en esta población. Cuando un adulto sufre una obstrucción del bolo alimentario, se debe derivar de forma urgente a endoscopia para descartar tanto la EEo como otros trastornos obstructivos de mayor gravedad.

En los niños con síntomas digestivos altos se debe obtener siempre una biopsia y en los que sufren una enfermedad por reflujo típica, solo cuando no respondan a inhibidores de la bomba de protones[11].

No existe consenso sobre el número y la localización de las biopsias. La bibliografía indica que con 6 biopsias se puede conseguir entre un 97 y 100 % de precisión diagnóstica. Tampoco existe consenso sobre el número de localizaciones anatómicas, pero en general se recomienda biopsiar al menos el esófago proximal y distal[12], aunque otros autores recomiendan añadir muestras del tercio medio[13].

La densidad de eosinófilos se ha definido tradicionalmente como el número máximo de eosinófilos en un campo de gran aumento (CGA). El criterio clásico para diagnosticar la EEo ha sido una densidad de eosinófilos ≥ 15 eosinófilos/CGA, dado que esta densidad suele ser < 5/CGA en otros procesos, como la ERGE. Aunque este punto de corte consigue una sensibilidad del 100 % con una elevada especificidad, existe una gran variabilidad dada la discrepancia en la superficie que se mide en un CGA entre los distintos microscopios. La introducción de la patología digital ha llevado a los grupos de expertos a recomendar un cambio del criterio diagnóstico, que pasaría a ser ≥ 15 eosinófilos/0,3 $mm^2$ considerando la equivalencia de los campos de gran aumento en los sistemas digitales. Algunas

publicaciones han propuesto una modificación del criterio diagnóstico a favor de 60 eosinófilos/mm$^2$ para los servicios que utilizan patología digital.

Para reducir la subjetividad del recuento de eosinófilos aislado, se han planteado unos sistemas de gradación, como el *Eosinophilic Esophagitis Histology Scoring System*[14] o el *Eosinophilic Esophagitis Histology Remission Score*[15], que incorporan otros rasgos que se encuentran con frecuencia en la EEo. Estos índices están validados en ensayos clínicos, pero todavía no se emplean en la práctica clínica y la recomendación es describir estos datos en los informes, pero seguir empleando la densidad de eosinófilos como criterio diagnóstico.

Los rasgos histológicos encontrados con más frecuencia en la EEo son:

- Hiperplasia de células basales
- Espongiosis secundaria a edema epitelial
- Microabscesos de eosinófilos
- Formación de capas o estratos de eosinófilos
- Datos de activación de los eosinófilos (degranulación)
- Esclerosis subepitelial (rasgo que no siempre es valorable por la ausencia de esta región en la toma mucosa convencional)

Se ha sugerido que el uso de inhibidores de la bomba de protones (IBP) puede alterar la morfología de las biopsias y se ha recomendado interrumpir el tratamiento con IBP al menos 3 semanas antes de la endoscopia y biopsia. La dieta restrictiva también puede alterar la biopsia. Si la biopsia inicial es negativa, se debería repetir la toma de muestras si la sospecha endoscópica o clínica fuera alta, aunque no está bien definido qué casos se benefician de esta aproximación.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Entre los trastornos que pueden ocasionar una eosinofilia esofágica significativa se encuentran:

- Trastornos primarios:
  - Enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE)
  - Acalasia
  - Gastroenteritis eosinofílica
  - Infecciones por hongos
  - Esofagitis por comprimidos
- Trastornos secundarios:
  - Trastornos del tejido conjuntivo
  - Vasculitis
  - Síndrome hipereosinofílico
  - Enfermedad de Crohn
  - Enfermedad celíaca
  - Hipersensibilidad a fármacos

La clínica de los pacientes y la histología de las muestras permiten descartar estos diagnósticos diferenciales.

El seguimiento de los pacientes tratados por una EEo se realiza con biopsias, dada la mala correlación entre la clínica y la remisión histológica. Aunque no existe claro consenso para definir la remisión histológica, la mayor parte de los autores definen la remisión profunda/completa como una densidad de eosinófilos < 5/0,3 mm$^2$, remisión parcial si hay entre 5 y 14 eosinófilos/0,3 mm$^2$ y ausencia de respuesta si persisten ≥ 15 eosinófilos/0,3 mm$^2$.

## TRATAMIENTO

El tratamiento con dieta de eliminación consigue la remisión histológica y clínica en adultos y niños con EEo. Las dietas que eliminan 6 alimentos consiguen una mayor tasa de remisión que las dietas que eliminan 2-4 alimentos[16], pero estas se asocian a un mejor cumplimiento y condicionan un aumento del número de endoscopias para control[17]. No se recomienda realizar pruebas de alergia alimentaria para seleccionar los alimentos que se deben eliminar. La suspensión y reintroducción de los alimentos se debería realizar bajo la supervisión de un dietista experto. En general no se debe combinar la eliminación dietética con el tratamiento farmacológico, aunque se puede plantear el tratamiento combinado cuando fracasen los fármacos[18].

El tratamiento con IBP induce remisión clínica e histológica en algunos pacientes con EEo, independientemente de que tengan o no ERGE asociada. Los IBP se deberían administrar 2 veces al día durante al menos 8-12 semanas antes de valorar la respuesta histológica sin suspenderlos. En los pacientes con respuesta a IBP, el tratamiento de mantenimiento es eficaz para mantener la remisión. La EEo que responde a IBP y la que no se consideran la misma enfermedad y el tratamiento de prueba con IBP no permite establecer un diagnóstico diferencial clínico con otras entidades.

Los esteroides tópicos consiguen la remisión clínica e histológica de forma eficaz, pero las recaídas tras su interrupción son muy frecuentes y se debería mantener este tratamiento de forma prolongada.

Existen algunos fármacos biológicos recientes que se emplean en procesos alérgicos y que pueden ser útiles en el tratamiento de la EEo (dupilumab, cendakimab, benralizumab). En general no se recomienda administrar cromoglicato sódico, montelukast ni antihistamínicos para la EEo, pero muchos pacientes los reciben como parte del tratamiento de su enfermedad atópica asociada. En casos con atopia significativa o mala respuesta a los tratamientos habituales, el manejo debe ser coordinado por los digestólogos y los alergólogos y se puede plantear la incorporación de estos nuevos fármacos[19,20].

Hay un porcentaje de pacientes tratados que muestran respuesta histológica sin lesiones endoscópicas con persistencia de la disfagia. En este subgrupo de pacientes está indicada la realización de pruebas fisiológicas esofágicas, incluida la manometría de alta resolución y los estudios de motilidad esofágica. Los patrones funcionales son muy variables y algunos pacientes tienen resultados normales, mientras que otros presentan rasgos de acalasia. La planimetría esofágica se plantea como una herramienta para valorar la distensibilidad esofágica, aunque todavía no se emplea de forma generalizada en clínica[21,22].

Un diagnóstico y tratamiento precoces permiten reducir la frecuencia de complicaciones derivadas de la enfermedad (estenosis), dado que la fibrosis subepitelial parece reversible con tratamiento. Otro aspecto relevante en estos pacientes son las secuelas psicosociales y psicológicas derivadas de las dietas y la propia enfermedad (ansiedad, depresión), que deben ser evaluadas y manejadas por psicólogos[23].

## COMPLICACIONES

El tratamiento con IBP se asocia a efectos secundarios (diarrea, infecciones digestivas o deficiencia de magnesio). Si estos síntomas son graves, pueden obligar a suspender estos fármacos y a elegir tratamientos alternativos.

Los esteroides tópicos pueden aumentar el riesgo de sufrir infecciones por hongos, que se pueden tratar con antifúngicos tópicos.

Aunque no se han descrito efectos secundarios del tratamiento prolongado con esteroides tópicos, se debe vigilar la densidad mineral ósea y la supresión suprarrenal en niños y adolescentes.

A pesar de que el tratamiento reduce la frecuencia de estenosis secundarias a la EEo, algunos pacientes desarrollan esta complicación. La dilatación esofágica es eficaz para mejorar la estenosis y los

síntomas secundarios y se puede realizar con seguridad mediante balón o dilatadores. La dilatación tiene mejores resultados si se combina con tratamiento esteroideo.

La EEo es la causa más frecuente de perforación esofágica espontánea en todos los grupos de edad. Si se produce una perforación, se debería realizar una TC torácica con contraste para valorar el grado de extravasación. Si esta fuera limitada, se podría optar por un tratamiento conservador multidisciplinar.

## INVESTIGACIÓN FUTURA

Es preciso investigar en profundidad las causas y los factores que condicionan la evolución de la EEo para poder prevenirla y modificar su pronóstico. Es necesario encontrar alternativas a la endoscopia para el diagnóstico y seguimiento de la EEo, incluidas las basadas en la inteligencia artificial. También es fundamental fomentar el desarrollo y aplicación de escalas universales para diagnosticar y medir la gravedad de la enfermedad, que permitan diseñar ensayos clínicos para valorar la utilidad y seguridad de fármacos nuevos.

## Bibliografía


1. Attwood SE, Smyrk TC, Demeester TR y cols. Esophageal eosinophilia with dysphagia. A distinct clinicopathologic syndrome. Dig Dis Sci 1993; 38: 109–16.
2. Straumann A, Spichtin HP, Bernoulli R. Idiopathic eosinophilic esophagitis: a frequently overlooked disease with typical clinical aspects and discrete endoscopic findings. SchweizMedWochenschr 1994; 124: 1419–29.
3. Dhar A, Haboubi HN, Attwood SE y cols. British Society of Gastroenterology (BSG) and British Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (BSPGHAN) joint consensus guidelines on the diagnosis and management of eosinophilic esophagitis in children and adults Gut 2022; 71: 1459-87.
4. Hirano I, Chan ES, Rank MA y cols. AGA Institute and the joint Task force on Allergy-Immunology practice parameters clinical guidelines for the management of eosinophilic esophagitis. Gastroenterology 2020; 158: 1776–86.
5. Navarro P, AriasA, Arias-González L y cols. Systematic review with meta-analysis: the growing incidence and prevalence of eosinophilic esophagitis in children and adults in population-based studies. Aliment Pharmacol Ther 2019; 49: 1116–25.
6. Alexander ES, Martin LJ, Collins MH y cols. Twin and family studies reveal strong environmental and weaker genetic cues explaining heritability of eosinophilic esophagitis. J Allergy Clin Immunol 2014; 134: e1.
7. Ntuli Y, Bough I, Wilson M. Recognising eosinophilic esophagitis as a cause of food bolus obstruction. Frontline Gastroenterol 2020; 11: 11–15.
8. Ricker J, McNear S, Cassidy T y cols. Routine screening for eosinophilic esophagitis in patients presenting with dysphagia. Therap Adv Gastroenterol 2011; 4: 27–35.
9. Achem SR, Almansa C, Krishna M y cols. Esophageal eosinophilic infiltration in patients with noncardiac chest pain. Aliment Pharmacol Ther 2011; 33: 1194–201.
10. Kim HP, Vance RB, Shaheen NJ y cols. The prevalence and diagnostic utility of endoscopic features of eosinophilic esophagitis: a meta- analysis. Clin Gastroenterol Hepatol 2012; 10: e5.
11. Hiremath G, Correa H, Acra S y cols. Correlation of endoscopic signs and mucosal alterations in children with eosinophilic esophagitis. Gastrointest Endosc 2020; 91: 785–94.

12. Yantiss RK, Odze RD. Optimal approach to obtaining mucosal biopsies for assessment of inflammatory disorders of the gastrointestinal tract. Am J Gastroenterol 2009; 104: 774–83.

13. Vanstapel A, Vanuytsel T, De Hertogh G. Eosinophilic peak counts in eosinophilic esophagitis: a retrospective study. Acta Gastroenterol Belg 2019; 82: 243–50.

14. Collins MH, Martin LJ, Alexander ES y cols. Newly developed and validated eosinophilic esophagitis histology scoring system and evidence that it outperforms peak eosinophil count for disease diagnosis and monitoring. Dis Esophagus 2017; 30: 1–8.

15. Collins MH, Martin LJ, Wen T y cols. Eosinophilic esophagitis histology remission score: significant relations to measures of disease activity and symptoms. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2020; 70: 598–603.

16. Kagalwalla AF, Sentongo TA, Ritz S y cols. Effect of six-food elimination diet on clinical and histologic outcomes in eosinophilic esophagitis. Clin Gastroenterol Hepatol 2006; 4: 1097–102.

17. Kagalwalla AF, Wechsler JB, Amsden K, y cols. Efficacy of a 4-Food elimination diet for children with eosinophilic esophagitis. Clin Gastroenterol Hepatol 2017; 15: e7.

18. Reed CC, Tappata M, Eluri S, y cols. Combination therapy with elimination diet and corticosteroids is effective for adults with eosinophilic esophagitis. Clin Gastroenterol Hepatol 2019; 17: 2800–2.

19. de Bortoli N, Visaggi P, Penagini R, y cols.The 1st EoETALY Consensus on the Diagnosis and Management of Eosinophilic Esophagitis-Current Treatment and Monitoring.Dig Liver Dis. 2024; 56: 1173-84.

20. Franciosi JP, Gordon M, Sinopoulou V y cols. Medical treatment of eosinophilic esophagitis. Cochrane Database Syst Rev. 2023; 7: CD004065.

21. Sanagapalli S, McGuire J, Leong RW y cols. The clinical relevance of manometric esophagogastric junction outflow obstruction can be determined using rapid drink challenge and solid swallows. Am J Gastroenterol 2021; 116: 280–8.

22. Fox MR, Sweis R, Yadlapati R y cols. Chicago classification version 4.0 © technical review: Update on standard high-resolution manometry protocol for the assessment of esophageal motility. Neurogastroenterology & Motility 2021; 33: e14120.

23. Jensen ET, Chaiboonma K, Ayala O, Proia A, Aceves SS. Sleep, Anxiety, Somatization, Quality of Life, and Resilience in Pediatric Patients With Eosinophilic Esophagitis. Clin Transl Gastroenterol. 2024; 15: e00672.

# Actualización lesiones eosinofílicas en el tracto GI: Gastritis eosinofílica

**Maddi Garmendia Irizar**
*Hospital Universitario Donostia. Donostia Ospitale Unibertsitarioa*

## EPIDEMIOLOGÍA

La mayoría de los casos se han reportado en pequeñas series o como casos aislados, lo cual dificulta la definición de mecanismos moleculares, características epidemiológicas y etiología. Esta entidad fue descrita en 1937 por Kaisijser[1,2].

La gastritis eosinofílica (GE) es una enfermedad infrecuente, con una prevalencia de 6,3/100.000 habitantes que afecta a cualquier rango de edad, con picos de incidencia entre la segunda y tercera década de vida. A diferencia de la esofagitis eosinofílica, no existe clara prevalencia de género, aunque existen publicaciones que recogen ligero predominio en hombres frente a mujeres (3:2)[3,4].

Al ser una patología infrecuente, habitualmente no existe sospecha clínica. Tampoco suelen aportarse datos clínicos que orienten hacia patologías ricas en eosinófilos, por lo que los hallazgos patológicos suelen ser la base del diagnóstico en dichas situaciones[5]. Sin embargo, no se recomienda realizar el diagnóstico de gastritis eosinofílica basado únicamente en hallazgos anatomopatológicos, la revisión de datos clínicos es fundamental para descartar otras causas de eosinofilia[3,4].

## FISIOPATOLOGÍA

Los eosinófilos están presentes en la mucosa del tracto gastrointestinal normal, a excepción del esófago. Desempeñan funciones de defensa inmune y, al activarse, los eosinófilos secretan mediadores inflamatorios, tales como la proteína catiónica, que resultan citotóxicas para el epitelio gastrointestinal. Además, se activa la degranulación de mastocitos y liberación de interleucinas (IL1, IL3, IL4, IL5, IL13); parece que la respuesta inmune tipo Th2 (IL4, IL5 y IL13) juega un papel relevante en el desarrollo de la gastritis eosinofílica[1].

## ENDOSCOPIA

La mayoría de los casos (62 %) no muestran alteraciones endoscópicas. Pueden también apreciarse eritema (24 %), ulceración de la mucosa (8 %), nodularidad (8 %) y friabilidad (6 %).

## CLÍNICA

Se manifiesta como un conjunto de síntomas inespecíficos que presentan relación con la profundidad de infiltración inflamatoria, la cual puede agruparse en tres categorías según la clasificación de Klein[1,2,4].

Infiltración de la mucosa: nauseas postprandiales, vómitos, dolor, diarrea, enteropatía pierde proteína. Es el tipo más frecuente y este tipo de gastritis eosinofílica es la que más tiende a cronificarse.

Infiltración de la capa muscular o de la muscular de la mucosa: engrosamiento y rigidez de la muscularis propia, que determina disfunción motora. Afecta sobre todo a estómago y duodeno. Puede cursar con recaídas clínicas.

Infiltración subserosa: la inflamación afecta a todas las capas, alcanzando la serosa. Produce ascitis eosinofílica y presenta una excelente respuesta frente a corticoides.

## HALLAZGOS HISTOLÓGICOS

A diferencia de lo que sucede en el esófago, la presencia de eosinófilos en la lámina propia en el estómago es un hallazgo que se encuentra dentro de la normalidad. Actualmente *The Food and Drug Administration*(FDA) determina que ≥30 eosinófilos por campo de gran aumento en 5 campos permite establecer el diagnóstico de gastritis eosinofílica[5,7].

En la gastritis eosinofílica, la infiltración por eosinófilos es habitualmente parcheada y puede acompañarse por criptitis, daño epitelial, depleción de mucina, hiperplasia foveolar e incremento de celularidad inflamatoria no eosinofílica (especialmente neutrófilos y algunas células plasmáticas)[5].

Otros hallazgos morfológicos incluyen el edema de lámina propia y la ectasia vascular. Puede haber hiperplasia de la muscular propia, con infiltrado eosinofílico entre los haces musculares. Ocasionalmente pueden verse cristales de Charcot-Leyden. Puede también existir pequeños granulomas mal definidos y vasculitis en arterias de pequeño calibre[4].

Otros hallazgos, entre los que se incluyen degranulación eosinofílica, distribución anormal de los eosinófilos, agrupaciones/sábanas de eosinófilos en la lámina propia, *clusters* intraepiteliales y afectación de la submucosa sin evidencia de alteración de las criptas o de la arquitectura glandular, deben plantear la posibilidad de patologías eosinofílicas gastrointestinales[3].

## RECOMENDACIONES PARA LA EVALUACIÓN DE LA EOSINOFILIA TISULAR[5]

- Evaluar todos los fragmentos tisulares primero a x40 y, posteriormente, a x100 aumentos para descartar otro tipo de patología que pueda producir infiltración eosinofílica (p.ej. Helicobacter pylori, celiaquía, etc.). Una vez descartadas estas entidades, buscar con x200 las áreas más ricas en eosinófilos y una vez definidas, realizar contaje a x400. El contaje de eosinófilos debe evitar el contaje en áreas ya evaluadas anteriormente.
- La muestra idealmente debe estar orientada de forma que incluya el epitelio, mucosa y la muscular de la mucosa. Esto no se consigue con facilidad, pero no debe frustrar al patólogo en su intención de evaluar la eosinofilia tisular.
- Si la mayor densidad de eosinófilos se concentra en un fragmento que no alcanza un CGA, el contaje debería incluir este fragmento a pesar de que no cumpla el criterio cualitativo suficiente. Las recomendaciones determinan que lo fundamental es evaluar la riqueza celular por encima de las características cualitativas del tejido.
- Se deben contar todas las células que incluyan uno o más de los siguientes criterios: núcleo bilobulado intacto, núcleo parcialmente evaluable o granulación eosinófila agrupada y parcialmente delimitada por una membrana a pesar de no poder visualizar el núcleo (los gránulos eosinófilos en lámina propia no delimitados no deben evaluarse en el contaje) (**Figura 1**).
- Disposición de los eosinófilos: En la mucosa oxíntica los eosinófilos pueden hallarse atrapados entre el componente glandular, por eso se recomienda evaluar el tejido con aumento x400, ya que puede dar la sensación de que no hay un número alto de eosinófilos si no se buscan con detenimiento. En el antro se encuentran en localización basal y subepitelial, (**Figura 2**).

- Si las agrupaciones de eosinófilos son grandes, generalmente no puede realizarse un contaje real; en estas situaciones una descripción detallada puede aportar la información necesaria, (**Figura 3**).
- Los casos con infiltrados eosinófilos densos (80-100 eosinófilos /CGA) suelen acompañarse de daño de la superficie epitelial, depleción de mucina, hiperplasia foveolar y riqueza de celularidad inflamatoria acompañante (sobre todo neutrófilos). En contajes inferiores a 80 eosinófilos/CGA los cambios mucosos son sutiles o inexistentes y pueden pasar desapercibidos si el patólogo no ha realizado un rastreo para evaluar la eosinofilia tisular.
- Actualmente no se ha demostrado mejoría significativa del contaje de eosinófilos mediante procedimientos digitales, aunque es posible que en breve existan algoritmos que puedan proporcionar ayuda en este sentido. La tinción mediante peroxidasa eosinofílica puede ayudar a desarrollar el contaje digital (actualmente se suele realizar en tinción de HE).
- La variabilidad intra e interobservador puede minimizarse si se comparten casos con criterios definidos de gastritis eosinófila y así entrenarse en el contaje celular a ojo desnudo.

**Figura 1.** Ejemplos de recuento de eosinófilos. La línea continua marca el número de eosinófilos evaluado en cada imagen (A: 3; B:1; C:2; D:1; E: 2; F:3). La línea discontinua se corresponde con eosinófilos que deberían evaluase en cortes seriados.

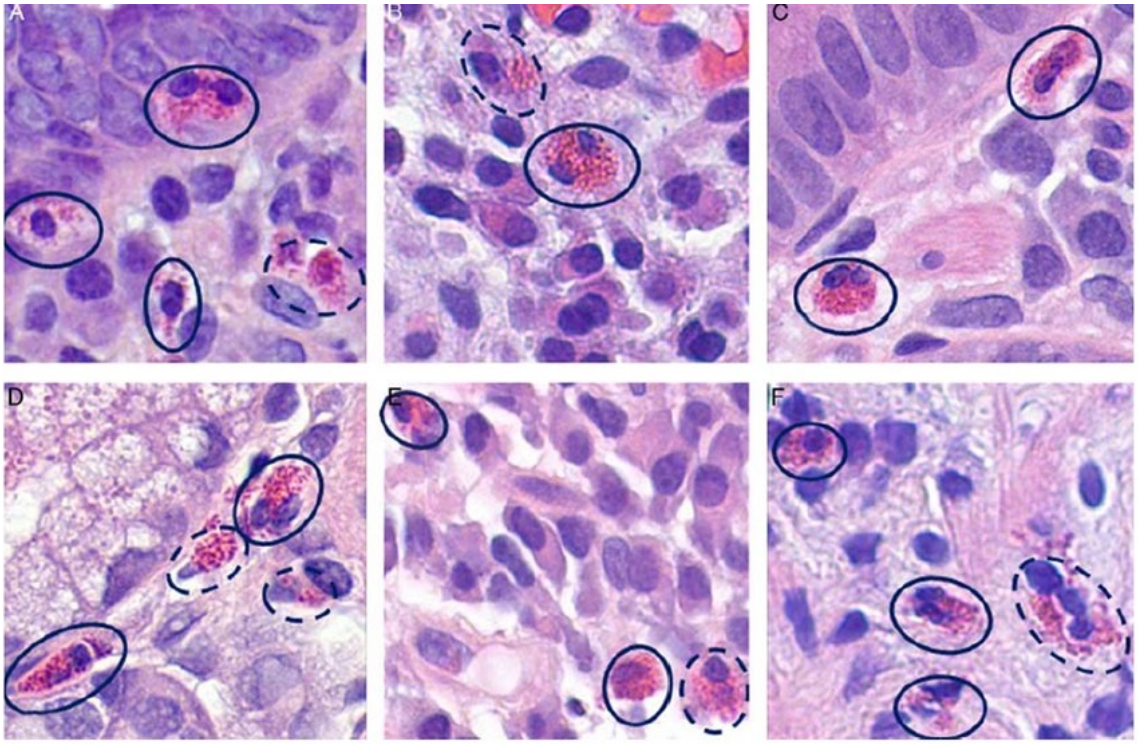


**Figura 2.** En la mucosa oxíntica (A) los eosinófilos tienen a encontrarse atrapados entre el componente glandular, mientras que en antro (B) pueden localizarse tanto a nivel basal como subepitelial

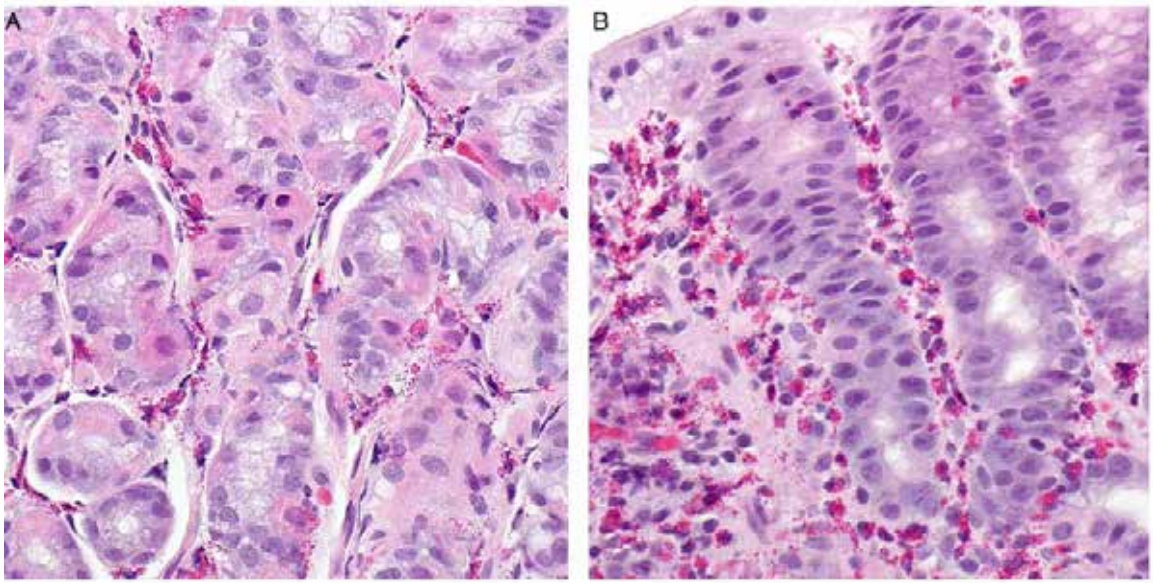
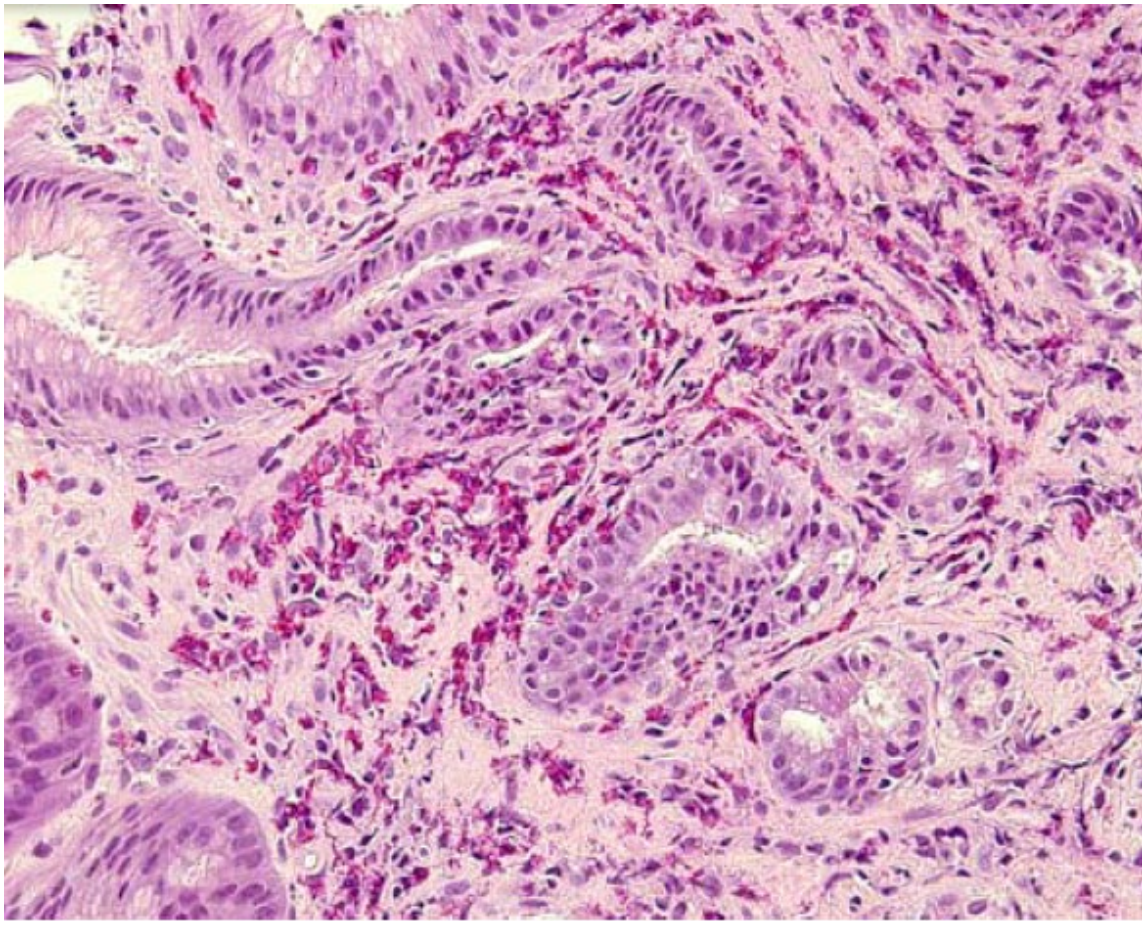



**Figura 3.** En este caso el alto número de eosinófilos impiden un contaje preciso. En estas situaciones se recomienda realizar una descripción detallada.



## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Deben excluirse otras causas de eosinofilia tales como[1, 3, 4, 8]:

- Enfermedades sistémicas: vasculitis, conectivopatías, síndrome hipereosinofílico, enfermedad injerto contra huésped, mastocitosis sistémica.
- Enfermedades gastrointestinales: reflujo gastroesofágico, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enteropatía por sensibilidad al gluten (celiaquía), abdomen agudo, pólipo fibroide inflamatorio gástrico, perforación intestinal, síndromes malabsortivos.
- Alergias alimentarias: leche, soja, huevo, harina, cacahuetes, frutos secos con cáscara.
- Medicamentos: penicilina, cefalosporina, aspirina, sulfonamidas (entre otros).
- Infecciones: *ascaridiasis, triquinosis, esquistosomiasis, anisakiasisy las infecciones por Ancylostoma caninum, Enterobius vermicularis, Giardia lamblia y, Trichinella spirallis*, entre otros.
- Tumores: enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, entre otros.

## TRATAMIENTO[1]

Dieta: si la sintomatología persiste tras el tratamiento con corticoesteroides, se recomienda reeducación de la dieta con exclusión de alimentos, tales como leche, soja, huevos, harina, cacahuetes y pescado/marisco.

Corticoesteroides: prednisona, budesonida, fluticasona. Habitualmente se trata con prednisona 0,5-1mg/kg con mejoría clínica rápida (2-14 días).

Otros tratamientos posibles incluyen inhibidores de mastocitos, antagonistas de receptores de leucotrieno (montelukast), antileucotrieno 5 (anti IL-5, mepolizumab), antihistamínicos, trasplante de microbiota intestinal y cirugía. Ver **Figura 4** con el resumen del Diagnóstico y Tratamiento.

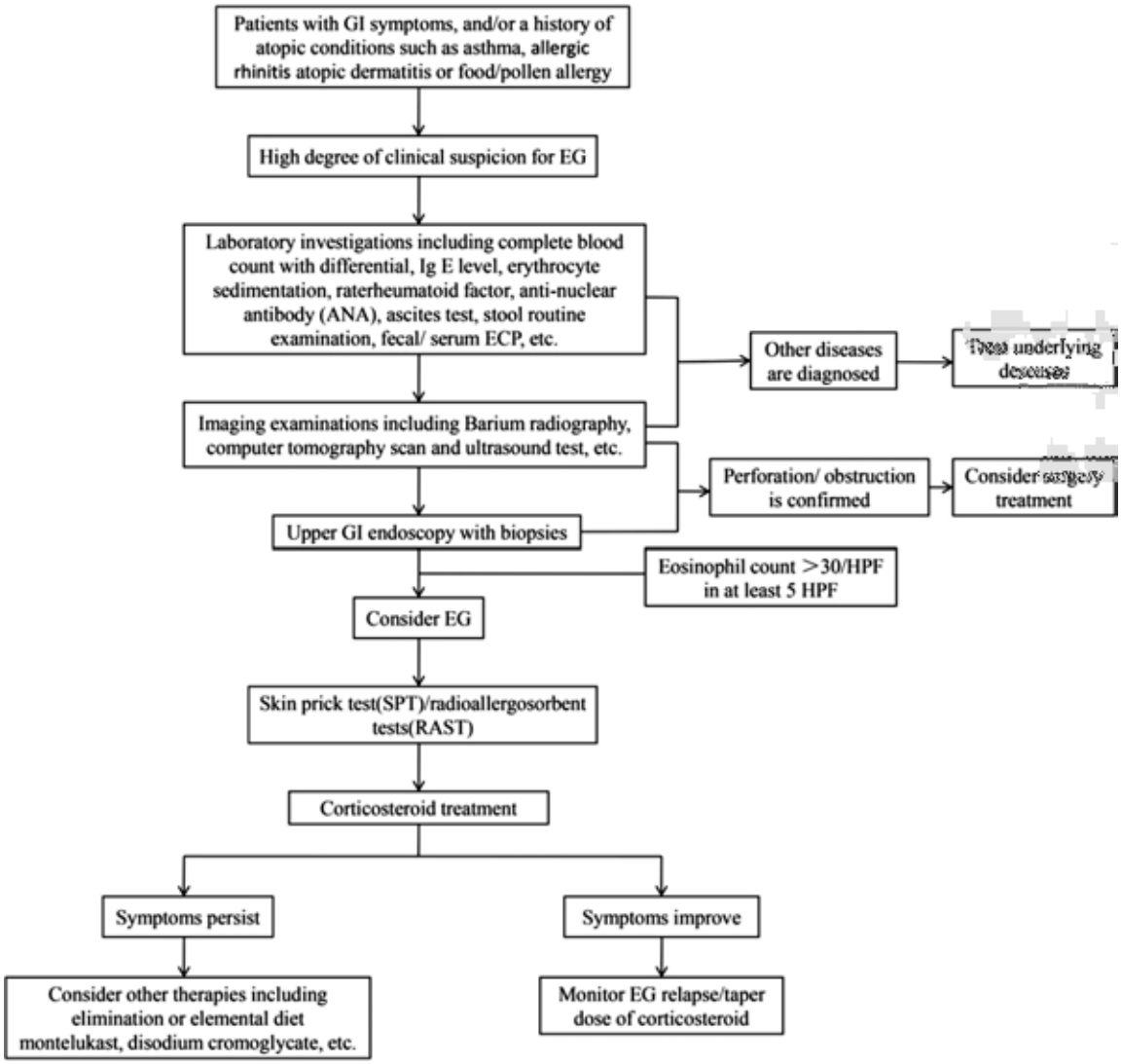
## Bibliografía


1. Zhang MM, YanQing Li. Eosinophilic gastroenteritis: A state-of-the-art review. Journal of Gastroenterology and Hepatology 32 (2017) 64–72.
2. Chang JY, Choung RS, Lee RM, Locke III GR, Schleck CD, Zinmeister AR, y cols. A Shift in the Clinical Spectrum of Eosinophilic Gastroenteritis Toward the Mucosal Disease Type. Clinical Gastroenterology And Hepatology 2010;8:669–675 Vol.8,No.8. doi:10.1016/j.cgh.2010.04.022.
3. Hornick JL, Gonzalez RS. Surgical Pathology Clinics. Vol 13, Num3 Sept 2020. Philadelphia; Elsevier 2020: 402-3.
4. Noffsinger A, Fenoglio-Preiser C, Maru D, Gilinsky N. Atlas of Nontumor Pathology. Armed Forces Institute of Pathology First Series, Fascicle 5. Washington DC 2007.
5. Turner KO, Collins MH, Walker MM, Genta RM, MD. Quantification of Mucosal Eosinophils for the Histopathologic Diagnosis of Eosinophilic Gastritis and Duodenitis. Am J Surg Pathol2022;46: 557–66.
6. Pesek RD, Reed CC, Collins MH, Muir AB, Fulkerson PC, Menard-Katcher C y cols. Association Between Endoscopic and Histologic Findings in a Multicenter Retrospective Cohort of Patients with Non-esophageal Eosinophilic Gastrointestinal Disorders. Dig Dis Sci 2020; July 65(7): 2024-35.

7. Steinback EC, Hernandez M, Dellon ES. Eosinophilic Esophagitis and the Eosinophilic Gastrointestinal Diseases: Approach to Diagnosis and Management. J Allergy Clin Immunol Pract 2018 Sept-Oct; 6(5): 1483-1495. Doi 10.1016/j.jaip.2018.06.012. Epub2018 Jul 3.

8. Hurrell JM, Genta RM, Melton SD. Histopathologic Diagnosis of Eosinophilic Conditions in the Gastrointestinal Tract. Adv Anat Pathol 2011; Sep; 18(5): 335-48.

**Figura 4.** Diagrama de diagnóstico y tratamiento.


Patients with GI symptoms, and/or a history of atopic conditions such as asthma, allergic rhinitis atopic dermatitis or food/pollen allergy
High degree of clinical suspicion for EG
Laboratory investigations including complete blood count with differential, Ig E level, erythrocyte sedimentation, raterheumatoid factor, anti-nuclear antibody (ANA), ascites test, stool routine examination, fecal/ serum ECP, etc.
Other diseases are diagnosed
Imaging examinations including Barium radiography, computer tomography scan and ultrasound test, etc.
Perforation/ obstruction is confirmed
Upper GI endoscopy with biopsies
Eosinophil count ＞30/HPF in at least 5 HPF
Consider EG
Skin prick test(SPT)/radioallergosorbent tests(RAST)
Corticosteroid treatment
Symptoms persist
Symptoms improve
Consider other therapies including elimination or elemental diet montelukast, disodium cromoglycate, etc.
Monitor EG relapse/taper dose of corticosteroid

# Actualización lesiones eosinofílicas en el tracto GI: Enteritis eosinofílica

**María del Rosario Mercado Gutierrez**
*Hospital Universitario de Navarra*

## EPIDEMIOLOGÍA

La gastroenteritis eosinofílica (GEE) es una enfermedad heterogénea y poco común por lo que hay datos limitados en cuanto a su prevalencia[1]. Se estima una prevalencia estandarizada de 6.3/100,000. En adultos se presenta entre la tercera y quinta década con un pico en la tercera década. En cuanto al sexo se da en igual proporción tanto en varones como en mujeres.

La GGE se caracteriza por la infiltración eosinofílica del tracto gastrointestinal (TGI), con una clínica característica dependiendo del segmento afectado y de la capa de la pared del TGI afectada. Según las manifestaciones clínicas y la profundidad de la capa de la pared afectada Klein y cols. definieron la enfermedad como mucosa, muscular y serosa[2].

La afectación individual del intestino delgado se conoce como enteritis eosinofílica (EE); si se puede definir una localización más específica, se podría hablar de duodenitis eosinofílica, yeyunitis eosinofílica o ileitis eosinofílica[3].

## CLÍNICA

La GEE tiene una predilección por el antro distal y la parte proximal del intestino delgado. La clínica varía dependiendo de la localización, la extensión del órgano afectado,así como la capa de la pared del intestino afectada[2].

- **Enfermedad mucosa:** Los síntomas más comunes son dolor abdominal, náuseas, vómitos, saciedad precoz y diarreas. La afectación difusa del intestino delgado puede causar mala absorción.
- **Enfermedad de la capa muscular**: Engrosamiento de la pared intestinal y alteración de la motilidad. Síntomas de obstrucción intestinal y finalmente perforación[4].
- **Enfermedad de la capa serosa:** Los pacientes suelen presentar ascitis aislada o asociada a otros síntomas característicos de la enteritis mucosa.

## DIAGNÓSTICO

Se requiere la combinación de una clínica compatible, hallazgos endoscópicos que van desde una mucosa normal hasta edema, eritema, ulceración, granulación, engrosamiento de la pared, presencia de eosinofilia en las biopsias intestinales y, además, descartar otras causas de eosinofilia.

Dado que la GEE puede ser focal o parcheada, en los pacientes con enfermedad mucosa se recomiendan las siguientes tomas de biopsias:

- Las biopsias deben realizarse tanto de la mucosa anormal como normal ya que en esta última se puede apreciar inflamación eosinofílica.
- Múltiples biopsias: Al menos ocho muestras del estómago y cuatro del duodeno y, además, biopsias de las zonas afectadas endoscópicamente.
- Se recomiendan biopsias del bulbo duodenal y de la primera y segunda porción duodenales. En pacientes con enfermedad mucosa las biopsias son diagnósticas hasta en el 80 % de los casos; sin embargo, hay que recordar que en enfermedad muscular y serosa las biopsias podrían ser normales, por lo que, en biopsias de mucosa negativas, podrían ser necesarias biopsias transmurales por vía laparoscópica para establecer el diagnóstico[5, 6].
- Las biopsias transmurales son particularmente necesarias en pacientes con engrosamiento de la pared intestinal y/u obstrucción intestinal para descartar malignidad.

## HALLAZGOS HISTOLÓGICOS

El número de eosinófilos intramucosos varía de individuo a individuo, dependiendo de la edad, exposición a alérgenos alimentarios e infecciosos y geografía. Además, en un mismo individuo varía a su vez dependiendo de la porción del TGI, por lo que no se ha establecido un acuerdo en la cantidad de eosinófilos normales en el intestino delgado, estómago o colon. Muy aislados eosinófilos se consideran normales en el intestino delgado. Un estudio reciente ha establecido un punto corte de <52 eosinófilos por campo de gran aumento (CGA) para las muestras de intestino delgado, pero no está validado como criterio diagnóstico[(7)]. Se sugiere el uso del término eosinofilia mucosa para los casos en los que no se encuentren otros hallazgos histológicos que sugieran una enteritis eosinofílica y el término de enteritis eosinofílica para los casos con hallazgos patológicos adicionales que incluyen[8,9]:

- Degranulación de eosinófilos
- Eosinófilos intraepiteliales
- Cambios regenerativos epiteliales
- Abscesos eosinofílicos
- Cambios epiteliales regenerativos y degenerativos
- Atrofia vellositaria
- Presencia de eosinófilos en la capa muscular, serosa o en ambas

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

- **Enfermedades parasitarias**: se observan agregados densos focales de eosinófilos en las biopsias de duodeno y yeyuno especialmente cuando son adyacentes a las larvas, gusanos o huevos. donde en general se puede identificar el organismo parasitario.*Ancylostoma caninum, Necatora mericanus, Enterobius vermicularis, Eustoma rotundatum, Ascaris lumbricoides, Trichuris trichura, Trichinella spiralis* y gérmenes de los géneros *Esquistosoma y Anisakis* son algunos de los helmintos que pueden encontrarse en el intestino delgado. Se ha descrito ascitis eosinofílica asociada a *Toxocara canis* y*Strongyloides stercoralis*. Los abscesos eosinofílicos se suelen encontrar en las infecciones por gérmenes del género *Eschistosoma* y se identifican de forma preferente en el íleon terminal. En ciertas partes del mundo, preferentemente en el Norte de Australia, se ha descrito una enteritis causada por *Ancylostoma caninum*en que cursa con dolor abdominal persistente e intenso, eosinofilia periférica y eosinofilia mucosa en las biopsias de intestino delgado.
- **Enfermedad Inflamatoria Intestinal:** Se diferencian de la GEE por la presencia de distorsión arquitectural, exudados focales neutrofílicos y presencia de granulomas.

- **Vasculitis:** El síndrome de Churg-Strauss y la poliarteritis nodosa presentan un infiltrado inflamatorio de pequeños vasos, eosinofilia periférica, marcadores elevados de inflamación y auto-anticuerpos.
- **Enfermedades del tejido conjuntivo:** La esclerodermia, la dermatomiositis y la polimiositis presentan infiltrado en banda de eosinófilos y mastocitos entre las criptas y la capa muscular de la mucosa, así como afectación de las capas más profundas de la pared intestinal. En estos casos se debe hacer constar que se recomiendan estudios complementarios como anticuerpos séricos y evaluación de la eosinofilia periférica[10].
- **Reacción a fármacos**
- **Procesos tumorales**
- **Síndrome hipereosinofílico**
- **Mastocitosis**
- **Histiocitosis de células de Langerhans**

## TRATAMIENTO

El tratamiento varía en función de la severidad de los síntomas y de la presencia de malabsorción y malnutrición. Se recomienda un tratamiento inicial con dieta elemental evitando alérgenos, antiinflamatorios no esteroideos, corticoides sistémicos e inmunomoduladores[11].

## Bibliografía


1. Spergel JM, Book WM, Mays E, Song L, Shah SS, Talley NJ y cols. Variation in prevalence, diagnostic criteria, and initial management options for eosinophilic gastrointestinal diseases in the United States. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2011; 52:300.

2. Klein NC, Hargrove RL, Sleisenger MH, Jeffries GH. Eosinophilic gastroenteritis. Medicine (Baltimore) 1970; 49: 299–319.

3. Dellon ES, Gonsalves N, Abonia JP, Alexander JA, Arva NC, Atkins D y cols. International Consensus Recommendations for Eosinophilic Gastrointestinal Disease Nomenclature. Clin Gastroenterol Hepatol 2022; 20:2474.

4. Xie H. An Uncommon Cause of Acute Gastroenteritis, Intestinal Obstruction and Ascites. Gastroenterology. 2020 Aug;159(2):451-2.

5. Hirano I, Collins MH, King E, Sun Q, Chehade M, Abonia JP, y cols. Prospective Endoscopic Activity Assessment for Eosinophilic Gastritis in a Multisite Cohort. Am J Gastroenterol 2022; 117:413.

6. Dellon ES, Collins MH, Bonis PA,Leung J, Capocelli KE, Dohil R y cols. Substantial Variability in Biopsy Practice Patterns Among Gastroenterologists for Suspected Eosinophilic Gastrointestinal Disorders. Clin Gastroenterol Hepatol 2016; 14:1842.

7. Collins MH. Histopathologic features of eosinophilic esophagitis and eosinophilic gastrointestinal diseases. Gastroenterol Clin North Am. 2014 Jun;43(2):257-68)

8. Collins MH. Histopathology associated with eosinophilic gastrointestinal diseases. Immunol Allergy Clin North Am. 2009;29:109-xi.

9. Hurrell JM, Genta RM, Melton SD. Histopathologic diagnosis of eosinophilic conditions in the gastrointestinal tract. Adv Anat Pathol. 2011.

10. Oh HE, Chetty R. Eosinophilic gastroenteritis: a review. J Gastroenterol. 2008;43: 741–50.

11. Netzer P, Gschossmann JM, Straumann A, Sendensky A, Weimann R, Schoepfer AM. Corticosteroid-dependent eosinophilic oesophagitis: azathioprine and 6-mercaptopurine can induce and maintain long-term remission. Eur J Gastroenterol Hepatol 2007; 19:865.

# Actualización lesiones eosinofílicas en el tracto GI: Colitis eosinofílica

**Alberto Veiga Barreiro**
*Hospital Universitario de Ferrol*

## EPIDEMIOLOGÍA

La colitis eosinofílica es la enfermedad menos frecuente de las incluidas en el grupo de las enfermedades gastrointestinales eosinofílicas primarias (EGID). Se caracteriza por síntomas y signos de disfunción colónica, infiltrado eosinofílico tisular y ausencia de causas secundarias que expliquen el incremento de eosinófilos en el colon. A pesar de su etiología incierta y de las persistentes dificultades que plantea su reconocimiento, la prevalencia de esta enfermedad ha ido en incremento en las últimas décadas[1-4] con una prevalencia estimada en adultos que oscila entre 2,1 y 3,3 casos/100,000 individuos[1,2].

El primer caso de colitis eosinofílica fue descrito en 1959 por Dunstone G.[5] en un varón de 17 años sin antecedentes alérgicos ni infecciosos conocidos que precisó intervención quirúrgica por abdomen agudo con compromiso del ciego y del colon ascendente. Desde ese momento, el número de casos reportados ha sido muy limitado, algo a lo que, sin duda, ha contribuido la ausencia de criterios específicos relativos a la interpretación de la prueba diagnóstica por excelencia; el estudio anatomopatológico.

La falta de estandarización terminológica y con la tendencia histórica a agrupar bajo el término genérico de «gastroenteritis eosinofílica» procesos que, como en el caso de la colitis eosinofílica, poseen características fisiopatológicas y moleculares propias que condicionan evidentes repercusiones diagnósticas y terapéuticas[6].

El término «colitis eosinofílica» debe restringirse al diagnóstico de pacientes sintomáticos, diferenciándolo de esta manera del incremento significativo de eosinófilos en colon en ausencia de síntomas, situación para la cual parece más adecuado el diagnóstico de «eosinofilia colónica» (primaria) o ECP[7-8]. Es necesario contar con información clínica adecuada y suficiente que, de manera inevitable, debe ser integrada en la interpretación morfológica de la muestra[9].

Al hilo de esta necesaria unificación terminológica, en el desarrollo de esta sección se han seguido las recomendaciones publicadas por Dellon y cols. en 2022 referidas a la nomenclatura de las enfermedades eosinofílicas gastrointestinales[10]. En ellas se incide en la conveniencia de tratar el término «colitis eosinofílica» por separado del resto de entidades y en adoptar la abreviatura CEo (*eosinophilic colitis*) para la enfermedad que nos ocupa.

## PATOGENIA

La colitis eosinofílica (CEo) es una entidad heterogénea que presenta una distribución por edades bimodal, afectando a niños en los primeros años de vida en forma de diarrea sanguinolenta autolimitada y a adultos jóvenes en los que cursa,por lo general, como un proceso más crónico y recurrente[11].

La etiología y los mecanismos patogénicos de la CEo se conocen en profundidad si bien existe una evidente relación con procesos de tipo alérgico como la atopia y la hipersensibilidad alimentaria a través de mecanismos mediados por IgE, por células T o por formas mixtas[12-13]

Los eosinófilos son granulocitos derivados de células mieloides pluripotenciales efectoras del sistema inmune y, como tales, se encuentran presentes en condiciones fisiológicas tanto en la circulación periférica como en varios tejidos entre los que sobresale el tracto gastro intestinal inferior. Juegan un papel crucial en el sistema defensivo frente a patógenos y, a su vez, influyen en la modulación de las respuestas inmune y celular[14]. Sabemos que la elevación en el número de estas células es uno de los principales mecanismos patogénicos de las EGID y que, lejos de ser un hallazgo específico, es una situación frecuente en procesos que conforman los principales diagnósticos diferenciales de la EoC[15].Este infiltrado eosinofílico persistente conduce a la activación celular que, de manera potencial, puede ser responsable deun daño tisular crónico. La fisiopatología de este «exceso» de eosinófilos es compleja y multifactorial y en ella convergen factores inmunitarios, genéticos y ambientales.

## SINTOMATOLOGÍA Y CURSO CLÍNICO

La sintomatología de la CEo es inespecífica y poco orientativa. Los síntomas más frecuentes se encuentran sintetizados en la **Tabla 1**. Los síntomas y la forma de presentación de la CEo parecen esencialmente dependientes de la capa intestinal que muestre mayor grado de afectación por el infiltrado eosinofílico[16]. De esta manera, ante una afectación predominante de la mucosa esperaríamos un cuadro clínico dominado por diarrea, malabsorción y/o enteropatía pierde proteínas. La enfermedad transmural, sin embargo, puede provocar obstrucción intestinal por engrosamiento parietal, con riesgo de perforación en casos extremos. La menos frecuente afectación serosa se asocia a síntomas más graves con aparición de una ascitis eosinofílica[17].Con relativa frecuencia, especialmente en el caso de la CEo, las EGID cursan sin eosinofilia periférica, pudiendo esta, en el caso de estar presente a niveles especialmente elevados, es indicativa de algún proceso secundario subyacente (i.e. síndrome hipereosinofílico)[13].

**Tabla 1**. Sintomatología frecuentemente asociada a Colitis Eosinofílica[13,16,17]. La sintomatología predominante y la intensidad de los síntomas son dependientes de la capa intestinal afectada.

| Nivel de afectación | Sintomatología |
|---|---|
| **Mucosa** | Diarrea<br>Malabsorción<br>Enteropatía pierde-proteínas |
| **Capa muscular** | Engrosamiento parietal<br>Dolor abdominal<br>Obstrucción<br>Perforación |
| **Serosa** | Dolor abdominal exacerbado<br>Ascitis eosinofílica |

El estudio endoscópico no muestra alteraciones significativas en un alto porcentaje de casos. De los pacientes que presentan afectación, únicamente el 10 % muestran una imagen de pancolitis, siendo por tanto su presentación mayoritariamente segmentaria[9]. Los hallazgos endoscópicos, además de inespecíficos, no guardan correlación con la severidad de los síntomas[18] aunque sí parece existir cierta relación entre mejoría endoscópica y disminución de la intensidad del infiltrado eosinofílico[19].

La evolución de la enfermedad es variable. En edades tempranas, gran parte de los casos se resuelven de manera espontánea tras la retirada del o los agentes potencialmente responsables[7,20].El curso clínico en adultos suele ser distinto, de más difícil manejo y con peor respuesta a la eliminación de alergenos. Aunque las líneas terapéuticas no se encuentran especialmente bien definidas ni en lo relativo al fármaco de elección ni en lo concerniente a las pautas y duración de los tratamientos, gran parte de estos pacientes recibenantinflamatorios esteroideos, bien sistémicos,como la prednisona,otópicos, como labudesonida[13].Para tratamiento de mantenimiento y, especialmente en casos con clínica severa o refractaria, la alternativa terapéutica la constituyen por una parte los inmunomoduladores, como la azatioprina y la 6-mercaptopurina, y por otra el montelukast como antagonista de receptores de leucotrienos. La incorporación de tratamientos emergentes basados en el empleo de biológicos ya utilizados en otras EGIE se encuentra en fase de validación[21].

## HALLAZGOS HISTOLÓGICOS

La CEo es una entidad heterogénea en la que el único dato histológico realmente característico y confirmatorio es la afectación del colon por un infiltrado eosinofílico intenso que muestra mayoritariamente un carácter segmentario. Además, la presencia de eosinófilos varía de manera fisiológica entre individuos y depende de la sección del colon estudiada, con un gradiente decreciente hacia el colon izquierdo[(22)] por lo que, la inadecuada o inexistente identificación de las muestras puede suponer un sesgo importante para la interpretación diagnóstica[23].

A pesar de lo distintivo del infiltrado eosinofílico, el diagnóstico debe de ser contemplado desde un punto de vista multidisciplinar, integrando los hallazgos microscópicos con la sintomatología, la existencia de eosinofilia periférica, las alteraciones endoscópicas y el grado de información clínica disponible que permita, de manera razonable, descartar causas secundarias de eosinofilia en el colon.

En este sentido el diagnóstico diferencial es amplio (ver **Tabla 2**) e incluye una extensa variedad de enfermedades con etiopatogenias muy diversas que cursan en mayor o menor medida con infiltrado eosinofílico «exagerado». Uno de los diagnósticos diferenciales clásicos de eosinofilia en colon es la infección parasitaria. Los parásitos implicados con mayor frecuencia son: *Strongyloides stercolaris, Trichuris trichura y Schistosoma.*En estos casos, además de la posibilidad de identificar estructuras parasitarias, la distribución de los eosinófilos puede ser parcheada y limitada a una zona concreta de las muestras estudiadas[9]. La eosinofilia en coloninducida por fármacos se ha descrito en relación con clozapina, carbamacepina, rifampicina, tacrólimus, antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), fármacos antiagregantes plaquetarios y tratamientos hormonales. En estos casos el aparente predominio del infiltrado en el colon izquierdo puede resultar de ayuda a la hora de orientar el diagnóstico[24]. Durante la evolución de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) es frecuente encontrar un número elevado de eosinófilos. Aunque este hallazgo es especialmente frecuente en la enfermedad de Crohn y ha sidoidentificado como factor predictivo de exacerbación de la enfermedad[25], puede encontrarse en pacientes con colitis ulcerosa[26]. En estos, se ha relacionado con un comportamiento más agresivo de la enfermedad y con probables resistencias al tratamiento[27].En ambos casos el infiltrado eosinofílico, aunque potencialmente intenso, coexiste con una población habitualmente predominante de otras células inflamatorias.

**Tabla 2**. Diagnóstico diferencial de la colitis eosinofílica[9,23,30]. Principales causas etiológicas que pueden cursar con incremento de eosinófilos en el colon.

| | |
|---|---|
| **Infecciones parasitarias** | Strongyloides stercolaris, Trichuris trichura, Schistosoma spp. |
| **Colitis por fármacos** | Clozapina, carbamacepina, rifampicina, tacrólimus, micofenolato, antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), fármacos antiagregantes plaquetarios y tratamientos hormonales |
| **Enfermedad inflamatoria intestinal** | Enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa |
| **Vasculitis** | Poliarteritis, síndrome de Churg-Strauss |
| **Otros** | Colitis microscópica, síndrome hipereosinofílico, conectivopatías, neoplasias, colitis mastocítica, colitis rádica aguda, trasplante alógenico de médula ósea, Síndrome Tolosa-Hunt |

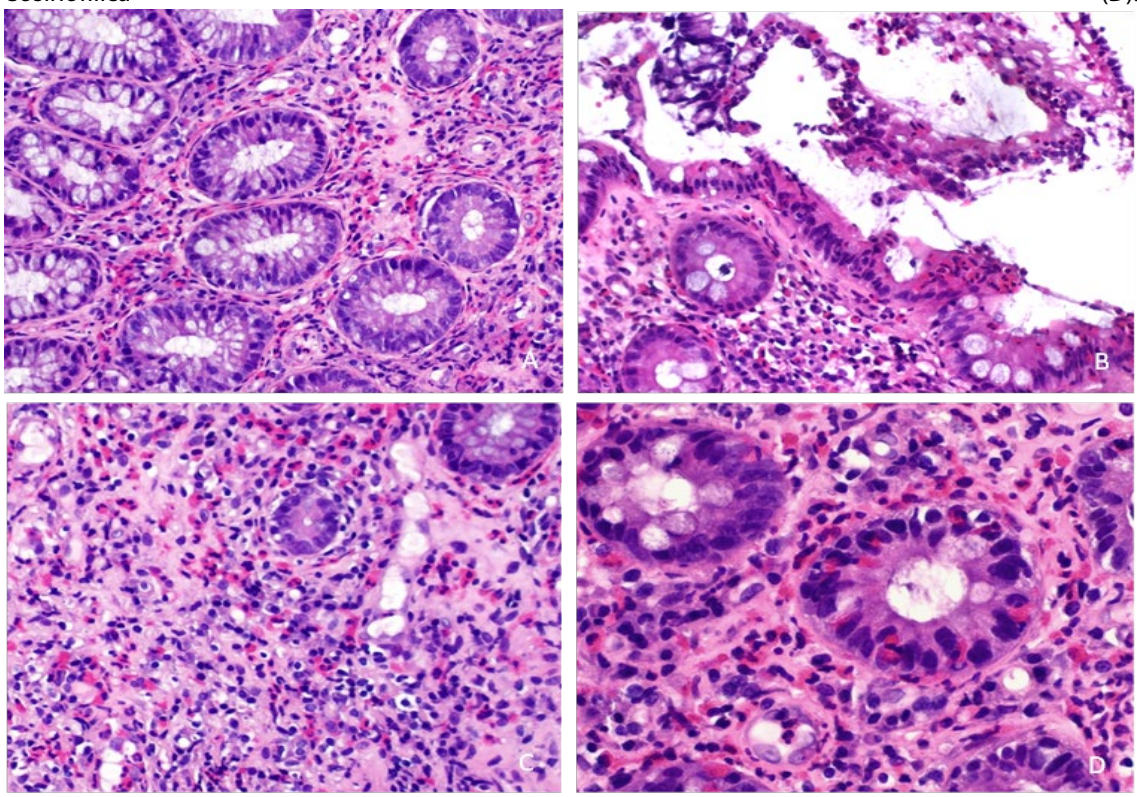
Las dificultades, la escasa reproducibilidad y la pobre caracterización de los métodos de cuantificación empleados históricamente han quedado reflejadas en el metaanálisis publicado por Kiss y cols.[28] en el que, tras una revisión exhaustiva de la literatura se pone de manifiesto la alta variabilidad en la densidad de eosinófilos presentes en situación «aparentemente no patológica», la inconsistencia de los criterios de inclusión de pacientes en numerosos estudios y la falta de homogenización de los métodos técnicos empleados a la hora de realizar el contaje.Los autores sugierenrealizar la cuantificación al menos en cinco campos de gran aumento (CGA) en las áreas con mayor representación de eosinófilos, reportar el número de células por $mm^2$ y poder evaluar al menos tres muestras de cada uno de los segmentos biopsiados. Por el contrario, en el reciente estudio de Dellon y cols.[29], aún coincidiendo en la necesidad de la multiplicidad de muestras, se hace hincapié en la mayor especificidad obtenida con puntos de corte derivados del estudio de campos únicos una vez identificado el CGA con mayor densidad de estas células.

De especial interés, tanto por la metodología empleada como por la practicidad de sus conclusiones, resultan los estudios retrospectivos publicados en 2017 por Díaz del Arco y cols.[30] y Turner y cols.[9] en los que, además,se pone de manifiesto la falta de especificidad del criterio estándar de 20 eosinófilos/CGA empleado en gran parte de estudios anteriores. Sus principales hallazgos,así como parte de su metodología se encuentran sintetizados en la **Tabla 3** y parcialmente representados en la **Figura 1**. En ambos se hace especial referencia, además de la obvia necesidad de cuantificar e linfiltrado eosinofílico, a la importancia de reconocer los «signos de activación» como son la presencia de eosinófilos intraepiteliales, la degranulación extensa y la presencia de microabscesos eosinofílicos.

**Tabla 3**. Principales hallazgos en estudios con pacientes adultos con diagnóstico histológico de EoC.(EoC: Colitis eosinofílica; PCE: Eosinofilia colónica primaria; HPF: campo de gran aumento)

| Autor | Población del estudio | Hallazgos endoscópicos | Principales hallazgos histopatológicos | Metodología en cuantificación de eosinófilos | Punto/s de corte | Referencia |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Díaz delArco y cols. (2017) | 106 pacientes con diagnóstico previo de CEo | Sin alteraciones: 68,9 %<br>Colitis no específica: 14,5 %<br>Colitis parecida a EII: 10,5 % | Media de 43,2 eos./CGA en lámina propia (nº máx. 55/CGA);<br>Eos. intraepiteliales (67 %), degranulación masiva (40,6 %), distorsión arquitectural (67 %),<br>fibrosis (41,5 %),<br>atrofia de la mucosa (16 %) | Media de nº de eos./CGA, en 5 campos CGAF en áreas con mayor intensidad<br>Máximo número de eosinófilos/HPF en el campo con mayor intensidad | >40/CGA independientemente del segmento de colon estudiado | 30 |
| Turner y cols. (2017) | 194 con diagnóstico de PCE<br>159 controles | Sin alteraciones: 32 %<br>Eritema: 11 %<br>Erosiones: 6 %<br>Granularidad mucosa: 6 %<br>Úlceras aftoides: 3 % | Media de 40-1190 eos./CGA<br>(166-5050/$mm^2$) en lámina propia, degranulación en la práctica totalidad de los casos,<br>arquitectura mayoritariamente normal,<br>ocasionales erosiones profundas | Media de número de eos./CGAen 5 campos en áreas con mayor intensidad, en cada localización colónica | Colon derecho: >50/CGA<br>Colon transverso: >35/CGA<br>Colon izquierdo: >25/CGA | 9 |

**Figura 1.** Posibles hallazgos histopatológicos en CEo: mucosa de arquitectura globalmente preservada con infiltrado de eosinófilos >200/CGA (A), denudación del epitelio superficial y eosinófilos intraepiteliales (B), alteración arquitectural con ulceración y degranulación de eosinófilos (C) y criptitis eosinofílica (D).




## CONCLUSIONES PARA LA PRÁCTICA DIARIA

La CEo es la menos prevalente, conocida y estudiada de las EGID. Su diagnóstico se encuentra limitado por la falta de estandarización de criterios histológicos y por la tremenda variabilidad metodológica reflejada en la literatura. Además, al tratarse de un diagnóstico de exclusión obliga a contar con información clínica precisa y completa, algo que, para nuestra desgracia, en la práctica diaria no ocurre con la frecuencia que desearíamos.

Todas estas limitaciones, sin embargo, no deberían suponer un impedimento a la hora de realizar un esfuerzo encaminado a la adecuada protocolización de estos estudios que, necesariamente, debe abarcar desde la propia toma de muestras hasta la información contenida en nuestros informes, más allá de que nos encontremos o no en una situación «segura» para emitir un diagnóstico confirmatorio de la enfermedad.

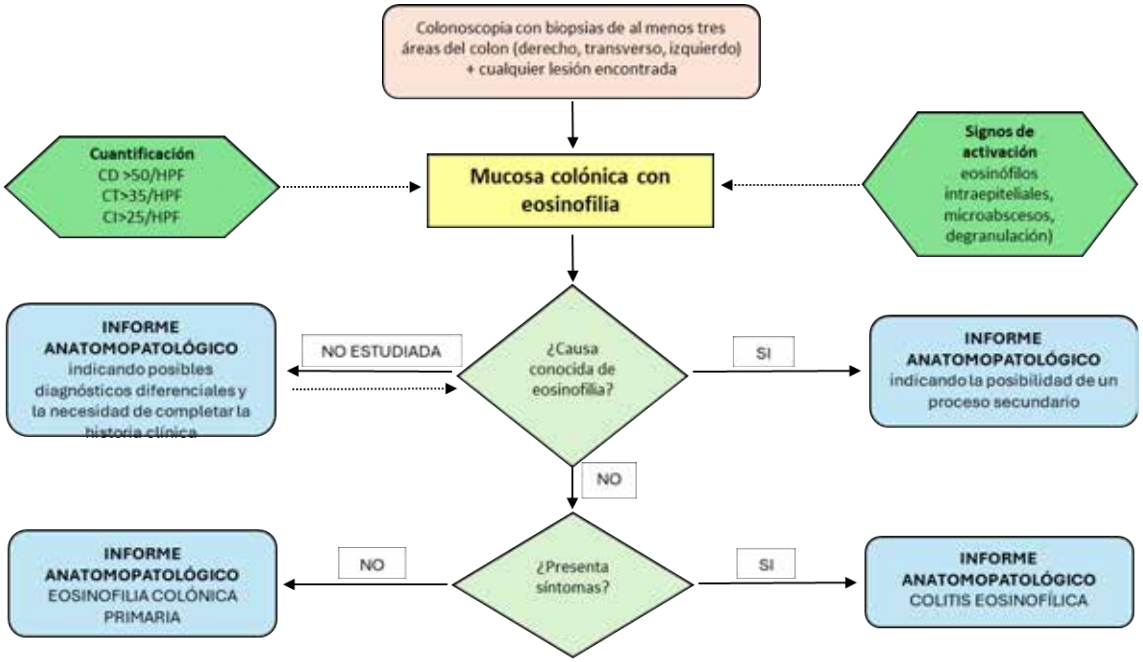
Aunque de manera habitual tendamos a evitar diagnósticos descriptivos, no debemos pasar por alto que lo verdaderamente importante y prioritario en la situación actual es llamar la atención sobre los hallazgos observados, de la manera más estructurada y homogénea posible, poniendo en alerta al clínico responsable de las posibilidades diagnósticas que plantea la biopsia y de la más que probable necesidad de realización de pruebas y estudios complementarios antes de llegar a un diagnóstico más preciso.

Para ello, y como primer paso ineludible, debemos mantener una comunicación clara con el digestólogo, exponiendo nuestras necesidades y estableciendo el lenguaje y la terminología a emplear. El estudio endoscópico, aunque puede resultar anodino y ofrecer una mucosa de apariencia próxima a la normalidad, es clave en la identificación de posibles alteraciones (edema, friabilidad, lesiones

aftoides) y, por tanto, de especial utilidad como guía en la toma de biopsias. También puede serlo en la monitorización de la enfermedad y la evaluación de la respuesta al tratamiento.

A pesar de todas las dificultades conocidas, de todo lo expuesto durante el desarrollo de esta sección podemos extraer algunas conclusiones. Parte de ellas se encuentran recogidas en forma de diagrama de flujo en la **Figura 2** que esperamos pueda resultar de utilidad en la protocolización e interpretación diagnóstica de estas biopsias.

**Figura 2**. Sugerencia de aproximación al diagnóstico de la colitis eosinofílica. Puntos de corte para cuantificación de eosinófilos adoptados de tomados de Turner y cols.[9].(CD: colon derecho; CT: colon transverso; CI: colon izquierdo; HPF: *highpowerfield:* campo de gran aumento).




Parece evidente la necesidad de contar con representación debidamente identificada de al menos tres regiones del colon (derecho, transverso e izquierdo) con un mínimo de 3 fragmentos de cada una de ellas. Para la cuantificación del infiltrado eosinofílico debemos adoptar un punto de corte. Una vez que, en base a la literatura actual, el punto de corte clásico de 20 eosinófilos/CGA parece mostrarse insuficiente para realizar una adecuada «selección» de estos pacientes, la aplicación de valores más altos y segregados por regiones como los propuestos en el estudio de Turner y cols.[9] puede aumentar la especificidad de nuestros diagnósticos. La idoneidad de realizar esta cuantificación sobre el estudio de cinco CGA con posterior obtención de la media de eosinófilos o de realizarla sobre un campo único tal y como proponen Dellon y cols.[29] es un punto de especial interés, pero aún en desarrollo. Al menos desde un punto de vista práctico, lo propuesto en este estudio simplificaría sin dudala valoración de este parámetro histológico tan crítico.

En todo caso, nuestro informe debe reflejar la metodología empleada y, de manera idónea, tal como reflejan Díaz del Arco y cols[30], además del valor medio de la cuantificación, el número máximo observado en el campo de gran aumento con mayor número de eosinófilos. Además de estos parámetros puramente cuantitativos debemos hacer mención y reflejar otros hallazgos (i.e. distorsión arquitectural, atrofia, fibrosis, coexistencia de inflamación aguda o de infiltrado linfoplasmocitario) con énfasis en los que podríamos reconocer como «signos de activación» (eosinófilos intraepiteliales, microabscesos y degranulación extensa). La afectación más allá de la mucosa, aunque se debería incluir en el informe, es un dato que difícilmente podremos objetivar en biopsias endoscópicas.

Atendiendo a la evolución actual de nuestra especialidad en el campo de la patología digital, debemos estar abiertos al empleo y desarrollo de nuevas herramientas fiables y reproducibles vehiculizadas a través de la digitalización de la imagen. La CEo es también en este sentido la menos

estudiada de las EGID. Los nuevos métodos estandarizados de contaje celular propuestos a otros niveles del tracto gastro intestinal como el desarrollado por Ceulemans y cols. basado en imagen digitalizada[31] y su posible adaptabilidad a la cuantificación de eosinófilos en la mucosa del colon, además de favorecer la cuantificación por área en detrimento del siempre microscopio-dependiente concepto de campo de gran aumento, constituyen una muy interesante y necesaria vía para establecer futuros puntos de corte fiables y reproducibles.

**Bibliografía**


1. Jensen ET, Martin CF, Kappelman MD, y col. Prevalence of Eosinophilic Gastritis, Gastroenteritis, and Colitis: Estimates From a National Administrative Database. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2016 Jan;62(1):36-42. doi: 10.1097/MPG.0000000000000865. PMID: 25988554; PMCID: PMC4654708

2. Mansoor E, Saleh MA, Cooper GS. Prevalence of Eosinophilic Gastroenteritis and Colitis in a Population-Based Study, From 2012 to 2017. Clin Gastroenterol Hepatol. 2017 Nov;15(11):1733-41. doi: 10.1016/j.cgh.2017.05.050. Epub 2017 Jun 8. PMID: 28603057

3. Pesek RD, Reed CC, Muir AB, y cols. Consortium of Eosinophilic Gastrointestinal Disease Researchers (CEGIR). Increasing Rates of Diagnosis, Substantial Co-Occurrence, and Variable Treatment Patterns of Eosinophilic Gastritis, Gastroenteritis, and Colitis Based on 10-Year Data Across a Multicenter Consortium. Am J Gastroenterol. 2019 Jun;114(6):984-94. doi: 10.14309/ajg.0000000000000228. PMID: 31008735; PMCID: PMC6554065

4. Spergel JM, Book WM, Mays E, y cols. Variation in prevalence, diagnostic criteria, and initial management options for eosinophilic gastrointestinal diseases in the United States. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2011 Mar;52(3):300-6. doi: 10.1097/MPG.0b013e3181eb5a9f. PMID: 21057327; PMCID: PMC4450826

5. Dunstone GH. A case of eosinophilic colitis. Br J Surg. 1959 Mar;46(199):474-6. doi: 10.1002/bjs.18004619913. PMID: 13651625

6. Shoda T, Collins MH, Rochman M, y cols. Consortium of Eosinophilic Gastrointestinal Diseases Researchers (CEGIR). Evaluating Eosinophilic Colitis as a Unique Disease Using Colonic Molecular Profiles: A Multi-Site Study. Gastroenterology. 2022 May;162(6):1635-49. doi: 10.1053/j.gastro.2022.01.022. Epub 2022 Jan 25. PMID: 35085569; PMCID: PMC9038694)

7. Raffaele A, Vatta F, Votto M, y col. Eosinophilic colitis in children: a new and elusive enemy? PediatrSurg Int. 2021 Apr;37(4):485-490. doi: 10.1007/s00383-020-04832-8. Epub 2021 Jan 7. PMID: 33409540

8. Impellizzeri G, Marasco G, Eusebi LH, y cols. Eosinophilic colitis: A clinical review. Dig Liver Dis. 2019 Jun;51(6):769-73. doi: 10.1016/j.dld.2019.04.011. Epub 2019 May 20. PMID: 31122823

9. Turner KO, Sinkre RA, Neumann WL, y col. Primary Colonic Eosinophilia and Eosinophilic Colitis in Adults. Am J SurgPathol. 2017 Feb;41(2):225-33. doi: 10.1097/PAS.0000000000000760. PMID: 27792062

10. Dellon ES, Gonsalves N, AboniaJP, y cols. International Consensus Recommendations for Eosinophilic Gastrointestinal Disease Nomenclature. Clin Gastroenterol Hepatol. 2022 Nov;20(11):2474-84.e3. doi: 10.1016/j.cgh.2022.02.017. Epub 2022 Feb 16. PMID: 35181570; PMCID: PMC9378753

11. Alfadda AA, Storr MA, Shaffer EA. Eosinophilic colitis: an update on pathophysiology and treatment. Br Med Bull. 2011;100: 59-72. doi: 10.1093/bmb/ldr045. Epub 2011 Oct 19. PMID: 22012125

12. Alfadda AA, Storr MA, Shaffer EA. Eosinophilic colitis: epidemiology, clinical features, and current management. Therap Adv Gastroenterol. 2011 Sep;4(5): 301-9. doi: 10.1177/1756283X10392443. PMID: 21922029; PMCID: PMC3165205

13. Lucendo AJ. Eosinophilic diseases of the gastrointestinal tract. Scand J Gastroenterol. 2010 Sep;45(9):1013-21. doi: 10.3109/00365521003690251. PMID: 20509820

14. Mehta P, Furuta GT. Eosinophils in Gastrointestinal Disorders: Eosinophilic Gastrointestinal Diseases, Celiac Disease, Inflammatory Bowel Diseases, and Parasitic Infections. Immunol Allergy Clin North Am. 2015 Aug;35(3): 413-37. doi: 10.1016/j.iac.2015.04.003. Epub 2015 Jun 17. PMID: 26209893; PMCID: PMC4515563

15. Conner JR, Kirsch R. The pathology and causes of tissue eosinophilia in the gastrointestinal tract. Histopathology. 2017 Aug;71(2): 177-99. doi: 10.1111/his.13228. Epub 2017 May 26. PMID: 28370248

16. Klein NC, Hargrove RL, Sleisenger MH, y cols. Eosinophilic gastroenteritis. Medicine (Baltimore). 1970 Jul;49(4):299-319. doi: 10.1097/00005792-197007000-00003. PMID: 5426746. Gonsalves N. Eosinophilic Gastrointestinal Disorders. Clin Rev Allergy Immunol. 2019 Oct;57(2):272-85. doi: 10.1007/s12016-019-08732-1. PMID: 30903439)

17. Uppal V, Kreiger P, Kutsch E. Eosinophilic Gastroenteritis and Colitis: A Comprehensive Review. Clin Rev Allergy Immunol. 2016 Apr;50(2):175-88. doi: 10.1007/s12016-015-8489-4. PMID: 26054822

18. Walker MM, Potter M, Talley NJ. Eosinophilic gastroenteritis and other eosinophilic gut diseases distal to the oesophagus. Lancet GastroenterolHepatol. 2018 Apr;3(4):271-80. doi: 10.1016/S2468-1253(18)30005-0. Epub 2018 Mar 7. PMID: 29533199

19. Barchi A, Vespa E, Passaretti S, y cols. The Dual Lens of Endoscopy and Histology in the Diagnosis and Management of Eosinophilic Gastrointestinal Disorders-A Comprehensive Review. Diagnostics (Basel). 2024 Apr 22;14(8): 858. doi: 10.3390/diagnostics14080858. PMID: 38667503; PMCID: PMC11049211

20. Lucendo AJ, Serrano-Montalbán B, Arias Á, y cols. Efficacy of Dietary Treatment for Inducing Disease Remission in Eosinophilic Gastroenteritis. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2015 Jul;61(1):56-64. doi: 10.1097/MPG.0000000000000766. PMID: 25699593

21. Marasco G, Visaggi P, Vassallo M, y cols. Current and Novel Therapies for Eosinophilic Gastrointestinal Diseases. Int J Mol Sci. 2023 Oct 13;24(20):15165. doi: 10.3390/ijms242015165. PMID: 37894846; PMCID: PMC10607071

22. Matsushita T, Maruyama R, Ishikawa N, y cols. The number and distribution of eosinophils in the adult human gastrointestinal tract: a study and comparison of racial and environmental factors. Am J SurgPathol. 2015 Apr;39(4):521-7. doi: 10.1097/PAS.0000000000000370. PMID: 25581733)

23. Okpara N, Aswad B, Baffy G. Eosinophilic colitis. World J Gastroenterol. 2009 Jun 28;15(24):2975-9. doi: 10.3748/wjg.15.2975. PMID: 19554649; PMCID: PMC2702104

24. Casella G, Villanacci V, Fisogni S, y cols. Colonic left-side increase of eosinophils: a clue to drug-related colitis in adults. Aliment Pharmacol Ther. 2009 Mar 1;29(5):535-41. doi: 10.1111/j.1365-2036.2008.03913.x.Epub 2008 Dec 10. PMID: 19077107

25. Brennan GT, Melton SD, Spechler SJ, y cols. Clinical Implications of Histologic Abnormalities in Ileocolonic Biopsies of Patients With Crohn's Disease in Remission. J Clin Gastroenterol. 2017 Jan;51(1):43-8. doi: 10.1097/MCG.0000000000000507. PMID: 26927490

26. Al-Haddad S, Riddell RH. The role of eosinophils in inflammatory bowel disease. Gut. 2005 Dec;54(12):1674-5. doi: 10.1136/gut.2005.072595. PMID: 16284283; PMCID: PMC1774805

27. Morgenstern S, Brook E, Rinawi F, y cols. Tissue and peripheral eosinophilia as predictors for disease outcome in children with ulcerative colitis. Dig Liver Dis. 2017 Feb;49(2):170-174. doi: 10.1016/j.dld.2016.11.007. Epub 2016 Nov 17. PMID: 27903418

28. Kiss Z, Tél B, Farkas N, y cols. Eosinophil Counts in the Small Intestine and Colon of Children Without Apparent Gastrointestinal Disease: A Meta-analysis. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2018 Jul;67(1):6-12. doi: 10.1097/MPG.0000000000001904. PMID: 29394213)

29. Dellon ES, Bortey E, Chang AT, y cols. Determination of Optimal Eosinophil Thresholds for Diagnosis of Eosinophilic Gastritis and Duodenitis: A Pooled Analysis of 4 Prospective Studies. Clin Transl Gastroenterol. 2024 Jan 1;15(1):e00656. doi: 10.14309/ctg.0000000000000656. PMID: 37870521; PMCID: PMC10810575

30. Díaz Del Arco C, Taxonera C, Muñoz LE, y cols. Eosinophilic colitis: experience in a large tertiary hospital. Rom J Morphol Embryol. 2017;58(3):783-9. PMID: 29250655

31. Ceulemans M, Huyghe P, De Hertogh G, y cols. Redefining Histological Cell Counts Using a Standardized Method: The Leuven Intestinal Counting Protocol. Clin Transl Gastroenterol. 2024 Jul 1;15(7):e00725. doi: 10.14309/ctg.0000000000000725. PMID: 38888240; PMCID: PMC11272351

# Biomarcadores en cáncer de colon

**Francisco Garcia Molina, Laura Alvarez Gigli, Carolina Martinez Ciarpaglini, Hernán Darío Quiceno Arias, Manuel Rodríguez Justo, Anabel Sáez**

## INTRODUCCIÓN

Cada año, se diagnostican en el mundo aproximadamente 1,9 millones de nuevos casos de cáncer colorrectal (CCR), lo que sitúa a esta enfermedad en el tercer lugar en incidencia global y en el segundo en mortalidad por cáncer (1).

La realización de programas de cribado poblacional en varios países europeos, con niveles óptimos de cobertura a largo plazo, ha demostrado una reducción significativa en la incidencia y mortalidad del CCR al facilitar la detección temprana y el tratamiento oportuno (2, 3).

No obstante, un fenómeno preocupante es el incremento en la incidencia del CCR en adultos jóvenes menores de 50 años, siendo particularmente más pronunciado en el colon que en el recto (4). Aunque las causas exactas de esta tendencia aún no se comprenden completamente, se ha asociado a factores de riesgo como el sedentarismo, obesidad, dieta rica en carnes rojas, consumo de tabaco y alcohol, entre otro (4, 5). En respuesta a este cambio epidemiológico, la *American Cancer Society* ha ajustado, recientemente, la edad recomendada para iniciar el cribado poblacional, reduciéndose de 50 a 45 año (6), aunque esta recomendación aún no ha sido incorporada en las guías europea (7).

El estadio clínico continúa siendo el principal factor pronóstico y predictivo en el manejo del CCR. No obstante, en las últimas dos décadas, se ha evidenciado una transformación significativa en la estrategia terapéutica, impulsada por el descubrimiento y aplicación de biomarcadores moleculares que permiten una medicina más precisa y personalizada. Estos biomarcadores no solo facilitan la selección de tratamientos dirigidos, sino que también tienen un papel fundamental en la evaluación pronóstica y en la identificación de subgrupos de pacientes con diferentes perfiles de respuesta.

## Bibliografía

1. Bray F, Laversanne M, Sung H y cols. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2024 May-Jun;74(3):229-63. doi: 10.3322/caac.21834. Epub 2024 Apr 4. PMID: 38572751.

2. Cardoso R, Guo F, Heisser T, y cols. EU-TOPIA consortium. Impact of colorectal cancer screening on cancer-specific mortality in Europe: A systematic review. Eur J Cancer. 2020 Mar;127:224-35. doi: 10.1016/j.ejca.2019.12.014. Epub 2020 Jan 10. PMID: 31932176.

3. Puigdemont M, Galceran J, Carulla M, y cols. Colorectal cancer incidence, mortality, and stage distribution in European countries in the colorectal cancer screening era: an international population-based study. Lancet Oncol. 2021 Jul;22(7):1002-13. doi: 10.1016/S1470-2045(21)00199-6. Epub 2021 May 25. PMID: 34048685.

4. Vuik FE, Nieuwenburg SA, Bardou M, y cols. Increasing incidence of colorectal cancer in young adults in Europe over the last 25 years. Gut. 2019 Oct;68(10):1820-6. doi: 10.1136/gutjnl-2018-317592. Epub 2019 May 16. PMID: 31097539; PMCID: PMC6839794.

5. Khil H, Kim SM, Hong S, y cols. Time trends of colorectal cancer incidence and associated lifestyle factors in South Korea. Sci Rep. 2021 Jan 28;11(1): 2413. doi: 10.1038/s41598-021-81877-2. PMID: 33510236; PMCID: PMC7844005.

6. Wolf AMD, Fontham ETH, Church TR, y cols. colorectal cancer screening for average- risk adults: 2018 guideline update from the american cancer Society. CA Cancer J Clin 2018;68: 250–81.

7. Mannucci A, Zuppardo RA, Rosati R, Leo MD, Perea J, Cavestro GM. Colorectal cancer screening from 45 years of age: Thesis, antithesis and synthesis. World J Gastroenterol. 2019 Jun 7;25(21):2565-80. doi: 10.3748/wjg.v25.i21.2565. PMID: 31210710; PMCID: PMC6558439.

En este capítulo, exploramos en profundidad los biomarcadores más relevantes en cáncer colorrectal, abarcando su impacto en la estratificación de riesgos, predicción de respuesta terapéutica y su papel en el desarrollo de nuevos tratamientos.

Además, se abordará la perspectiva emergente de los biomarcadores en el contexto de tecnologías innovadoras como la biopsia líquida, que está revolucionando la forma de tratar esta enfermedad.

## PROTEINAS REPARADORAS, INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES Y SINDROME DE LYNCH

Los microsatélites son secuencias repetitivas del ADN a lo largo del genoma de entre 1 y 6 bases, tanto en regiones codificantes como no codificantes, y aunque son altamente polimorfas entre diferentes sujetos, son estables en cada individuo. La naturaleza repetitiva de los microsatélites hace que resulten susceptibles a errores de emparejamiento que pueden ocurrir durante la replicación del ADN. Las deficiencias en el sistema de reparación de errores de emparejamiento (dMMR) condicionan la acumulación de mutaciones originadas por la ADN polimerasa que incluyen mutaciones puntuales, deleciones o inserciones que producen un cambio en la longitud de los microsatélites, fenómeno que se define como inestabilidad de microsatélites (MSI) y que representa la evidencia fenotípica de que el sistema de reparación de errores de emparejamiento (MMR) no funciona normalmente (dMMR). MMR es un sistema altamente conservado que restaura la integridad del ADN y cuatro genes juegan un rol fundamental en este proceso, con sus proteínas correspondientes MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2, que forman heterodimeros MLH1-PMS2 y MSH2-MSH6 (1).

Se recomienda el análisis de las proteínas reparadoras del ADN (MMR) en todos los pacientes con un diagnóstico nuevo de carcinoma colorrectal, ya que es importante para el cribado del síndrome de Lynch, como biomarcador pronóstico y predictor de respuesta a inmunoterapia (2).

Los tumores MSI-H (dMMR) tienen menor tendencia a metastatizar y en estadios II se considera un marcador de pronóstico favorable, con un beneficio disminuido e incluso impacto perjudicial del tratamiento adyuvante con fluoropirimidinas. Por otra parte, el estado de MSI es un marcador predictivo de respuesta a inmunoterapia en paciente con carcinoma colorrectal en estadios avanzados. Es importante señalar que la hipermutación somática no solo está impulsada por MSI/dMMR, sino también por mutaciones de POLE/POLD1, agentes exógenos como la luz UV y el tabaco. Esta alta carga mutacional favorece su respuesta a inhibidores del punto de control inmunitario.

El síndrome de Lynch es la forma de cáncer colorrectal hereditario más común, siendo cerca del 2-4 % de todos los carcinomas colorrectales, y se caracteriza por una mayor predisposición al desarrollo de carcinomas colorrectales y endometriales, pero también de otros tipos de carcinomas, con frecuencia en edades tempranas. Este síndrome se produce por mutaciones autosómicas dominantes en los genes reparadores del ADN (MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2) por EP-CAM. La mayor parte de las mutaciones afectan a MLH1 y MSH2. Para la identificación de los pacientes con Síndrome de Lynch las

guías clínicas recomiendan la realización del estudio inmunohistoquímico frente a los genes reparadores del ADFN (MMR) y, dependiendo de la pre-analítica, análisis de MSI mediante PCR/NGS, a todos los pacientes con un diagnóstico reciente de cáncer colorrectal y así determinar cuáles son candidatos al estudio en línea germinal de los genes MMR con un asesoramiento genético adecuado (2). Aproximadamente el 15 % de los carcinomas colorrectales muestran dMMR, pero solo un 15-20 % es causado por el síndrome de Lynch, mientras que el resto es causado por una hipermetilación somática del promotor de MLH1.

Centrándonos en la determinación, el estudio inmunohistoquímico es la metodología más empleada de entrada ya que está ampliamente disponible en muchos laboratorios. Se basa en que las proteínas MMR se expresan de forma ubicua en el núcleo de las células y muchas mutaciones interfieren con la formación de dímeros, lo que lleva a la degradación proteolítica de los heterodímeros. Se analiza la expresión proteica en el tejido tumoral de los cuatro genes reparadores (MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2). La normalidad implica que las cuatro están expresadas o retenidas en los núcleos de las células tumorales y la pérdida o ausencia de expresión de una o más de las cuatro sería informada como anormal. Utilizar los términos positivo o negativo puede generar confusión a la hora de interpretar el informe y se aconseja usar las expresiones: expresión conservada o retenida y pérdida o ausencia de expresión.

Las mutaciones en MLH1 se asocian a la pérdida de MLH1 y PMS2, mientras que las mutaciones en MSH2 lo hacen a la pérdida de MSH2 y MSH6. Sin embargo, cuando las mutaciones ocurren en los genes de las proteínas secundarias (PMS2 y MSH6), los heterodímeros pueden seguir siendo estables, sin pérdida de las proteínas obligatorias, ya que la función de las proteínas secundarias puede ser compensada por otras proteínas (como MSH3 o MLH3). El uso de anticuerpos contra PMS2 y MSH6 detecta los casos con mutaciones en MLH1/PMS2 o MSH2/MSH6, respectivamente (1, 2)

Realizar el estudio IHQ en el material de las biopsias diagnósticas se considera ventajoso porque el grado de fijación es mejor que el de las muestras quirúrgicas y porque la presencia de inestabilidad puede condicionar el tratamiento. Sin embargo, la realización en las piezas quirúrgicas permite seleccionar una muestra con mayor heterogeneidad, especialmente al analizar la tinción de MSH6. Cualquier reacción positiva en el núcleo de las células tumorales se considera una expresión intacta, dicha expresión suele ser parcheada debido a la heterogeneidad tumoral y la ausencia de expresión de células tumorales es evidente cuando existe positividad nuclear de las células de control interno, como las estromales, inflamatorias o epiteliales no tumorales (1, 2).

La determinación de la inestabilidad de microsatélites (MSI) mediante técnicas de PCR se utiliza cuando los resultados de la IHQ son indeterminados, hay dificultades en la interpretación o se pierde solo una subunidad del heterodímero. La prueba molecular tradicional se basa en la amplificación por PCR de al menos 5 marcadores de microsatélites. El *National Cancer Institute* (NCI) estableció en 1997 un panel (Bethesda) con tres dinucleótidos (D2S123, D5S346 Y D17S250) y dos mononucleótidos (BAT25 Y BAT26). La presencia de inestabilidad en dos o más de estos mono o dinucleótidos se interpreta como un fenotipo de alta inestabilidad (MSI-H), mientras que la inestabilidad en uno solo se interpreta como fenotipo de baja inestabilidad (MSI-L). Con el tiempo se han visto las limitaciones de este panel, debido a que las repeticiones de dinucleótidos son menos sensibles y específicas que las de mononucleótidos para la identificación de tumores con deficiencias en MMR. Por ese motivo se han incorporado nuevos mononucleótidos satélites que aumentan la sensibilidad de la detección de tumores MSI-H.

Las técnicas de secuenciación masiva son una alternativa para evaluar MSI y tiene además la ventaja de permitir la determinación de la carga mutacional tumoral y también la detección de otras alteraciones accionables, como mutaciones de KRAS, EGFR, BRAF, BRCA1/2, especialmente en pacientes con enfermedad metastásica (2, 3, 4).

Ante la ausencia de una expresión inmunohistoquímica de MLH1 en el tumor, se debe determinar la metilación del promotor del MLH1 y, si no se dispone de esta técnica, el estado mutacional de BRAF V600E, como técnica subrogada. La presencia de una mutación de BRAF V600E o la metilación del promotor de MLH1 son compatibles con un cáncer esporádico, aunque en pacientes con una fuerte

historia familiar este hallazgo no debe evitar el cribado en línea germinal, ya que el 1 % de los pacientes con síndrome de Lynch pueden tener mutaciones de BRAF V600E y pérdida de MLH1. La ausencia de expresión nuclear de MSH2 y MSH6 o de MSH6 o PMS2 aislados se asocia a una alta probabilidad de síndrome de Lynch y está indicado el estudio en línea germinal (2).

## CARGA MUTACIONAL TUMORAL (TUMOR MUTATIONAL BURDEN [TMB]) Y CARCINOMA COLORRECTAL ULTRAMUTADO POLE/D1 MUTADO

La carga mutacional tumoral (TMB) se define como el número de mutaciones somáticas dentro de un área codificante determinada del genoma tumoral cuantificado utilizando técnicas de secuenciación masiva (NGS). Los tumores con una TMB alta (TMB-H) tienen más probabilidades de producir epítopos mutantes específicos de tumor que funcionan como neoantígenos que no son reconocidos por el sistema inmunitario; de este modo la mayor activación de las células inmunes con inmunoterapia puede mejorar la eliminación de las células tumorales y la respuesta clínica. La medición de la TMB puede actuar como un indicador del número de antígenos presentes en un tumor (2, 5).

La TMB es por tanto un potencial biomarcador de respuesta a inmunoterapia y aunque los resultados de algunos ensayos clínicos no han sido consistentes, pembrolizumab ha sido aprobado por la FDA para pacientes con tumores sólidos irresecables o metastásicos que han progresado a tratamientos previos y no cuentan con tratamientos alternativos satisfactorios. El punto de corte en este caso es una TMB-H ≥10 mutaciones/megabase (Mut/Mb). En el estudio basket en fase II TAPUR, se incluyeron 28 pacientes con carcinoma colorrectal y se estableció el punto de corte de TMB-H ≥9 mutaciones/megabase. La media de TMB en estos pacientes fue de 11 Mut/Mb y aunque se observó una tasa de control de la enfermedad del 31 % (intervalo de confianza [IC] al 95 %, 18-40) y una odds ratio (OR) de 11 % (IC al 95 %, 2-28). Estos resultados parecen ser menos favorables que los observados con el tratamiento con pembrolizumab en pacientes con carcinoma colorrectal con MSI-H, muchos de los cuales también tiene TMB-H (2, 5, 6).

La TMB puede ser cuantificada mediante diversas tecnologías de secuenciación basadas en NGS. La secuenciación de todo el exoma (*Whole Exome Sequencing* [WES]) permite una medición integral de la TMB y se considera la prueba de referencia. Sin embargo, hasta la fecha, el WES sigue estando limitado a entornos de investigación debido al alto coste, los tiempos de valoración y la necesidad de análisis bioinformático. En el ámbito clínico, en cambio, están surgiendo paneles de genes de diversos tamaños genómicos para la evaluación de la TMB. Esto ha estimulado el desarrollo de varios métodos para la cuantificación de TMB basada en paneles y ha generado una multiplicación de estudios que evalúan si la TMB puede ser estimada con confianza a partir de un panel más pequeño. Algunos paneles cuentan con la aprobación de la FDA como el FoundationOne CDx que cubre 324 genes en 1,1 Mb y MSK-IMPACT que cubre 468 genes en 1,2 Mb. No se ha definido un flujo de trabajo óptimo y no cuenta con una definición clara, lo que evidencia una falta de estandarización e incluso un punto de corte para definir la TMB-H (2, 6, 7).

Debido a los datos limitados en pacientes con carcinoma colorrectal, la NCCN no recomienda el análisis de TMB, salvo en el contexto de un ensayo clínico (2).

Las alteraciones somáticas o germinales de la polimerasa de ADN D1 (POLD1) o de la polimerasa de ADN E (POLE) causan un fenotipo hipermutado de carcinoma colorrectal. Este subgrupo podría beneficiarse de la inmunoterapia (9).

Los genes de las polimerasas POLE y POLD1 codifican proteínas encargadas de funciones de revisión para reconocer y corregir bases mal emparejadas incorporadas durante la replicación del ADN. Las variantes patogénicas (PVs) dentro de dominios exonucleasas (ED) de POLE y POLD1 condicionan la pérdida de esta función de revisión, lo que lleva a la adquisición posterior de numerosas variantes de un solo nucleótido (SNVs) (2).

Las mutaciones en línea germinal en el dominio exonucleasa de POLD1 y POLE están asociadas al desarrollo de múltiples adenomas y carcinoma colorrectal. Las mutaciones en el dominio exonucleasa de POLD1 y POLE siguen un patrón de herencia autosómica dominante y parecen tener una alta penetrancia. Este fenotipo particular ha sido denominado «poliposis asociada a corrección por prueba de polimerasa» (2, 9).

La presencia de variantes patogénicas somáticas de POLE se describe en un 2-8 % de pacientes predominantemente con cáncer colorrectal con MSS/pMMR, mientras que las variantes patogénicas somáticas de POLD1 son extremadamente raras. Los carcinomas colorrectales con mutaciones somáticas o germinales de PVs dentro de ED muestran por NGS un fenotipo ultra mutador con una TMB >1000 mut/Mb. La identificación de variantes patogénicas de POLE/POLD1 puede realizarse a través de PCR o secuenciación Sanger también. La realización de NGS tiene la ventaja de identificar variantes patogénicas de POLE/POLD1 y evidencia de la TMB.

Por otra parte, los pacientes con carcinomas colorrectales que tienen variantes patogénicas de POLE/POLD1 presentan un mejor pronóstico, probablemente secundario a la respuesta inmunitaria estimulada por numerosos antígenos y responden bien al tratamiento con inhibidores del punto de control inmunitario (2, 9, 10).

**Bibliografía**


1. Luchini C, Bibeau F, Ligtenberg MJL, y cols. ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: a systematic review-based approach. Ann Oncol. 2019;30(8):1232-43. doi:10.1093/annonc/mdz116

2. NCCN. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®): Colon Cancer Version 5.2024 August 22,2024. Disponible en: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/colon.pdf

3. Murphy KM, Zhang S, Geiger T, y cols. Comparison of the microsatellite instability analysis system and the Bethesda panel for the determination of microsatellite instability in colorectal cancers. J Mol Diagn. 2006;8(3):305-11. doi:10.2353/jmoldx.2006.050092

4. Nowak JA, Yurgelun MB, Bruce JL, y cols. Detection of Mismatch Repair Deficiency and Microsatellite Instability in Colorectal Adenocarcinoma by Targeted Next-Generation Sequencing. J Mol Diagn. 2017;19(1):84-91. doi:10.1016/j.jmoldx.2016.07.01

5. Fenizia F, Wolstenholme N, Fairley JA, y cols. Tumor mutation burden testing: a survey of the International Quality Network for Pathology (IQN Path). Virchows Arch. 2021;479(6):1067-72. doi:10.1007/s00428-021-03093-7

6. Duvivier HL, Rothe M, Mangat PK, y cols. Pembrolizumab in Patients With Tumors With High Tumor Mutational Burden: Results From the Targeted Agent and Profiling Utilization Registry Study. J Clin Oncol. 2023;41(33):5140-50. doi:10.1200/JCO.23.00702

7. Fancello L, Gandini S, Pelicci PG, Mazzarella L. Tumor mutational burden quantification from targeted gene panels: major advancements and challenges. J Immunother Cancer. 2019;7(1):183. Published 2019 Jul 15. doi:10.1186/s40425-019-0647-4

8. Marques A, Cavaco P, Torre C, Sepodes B, Rocha J. Tumor mutational burden in colorectal cancer: Implications for treatment. Crit Rev Oncol Hematol. 2024;197:104342. doi:10.1016/j.critrevonc.2024.104342

9. Bourdais R, Rousseau B, Pujals A, y cols. Polymerase proofreading domain mutations: New opportunities for immunotherapy in hypermutated colorectal cancer beyond MMR deficiency. Crit Rev Oncol Hematol. 2017;113:242-8. doi:10.1016/j.critrevonc.2017.03.027

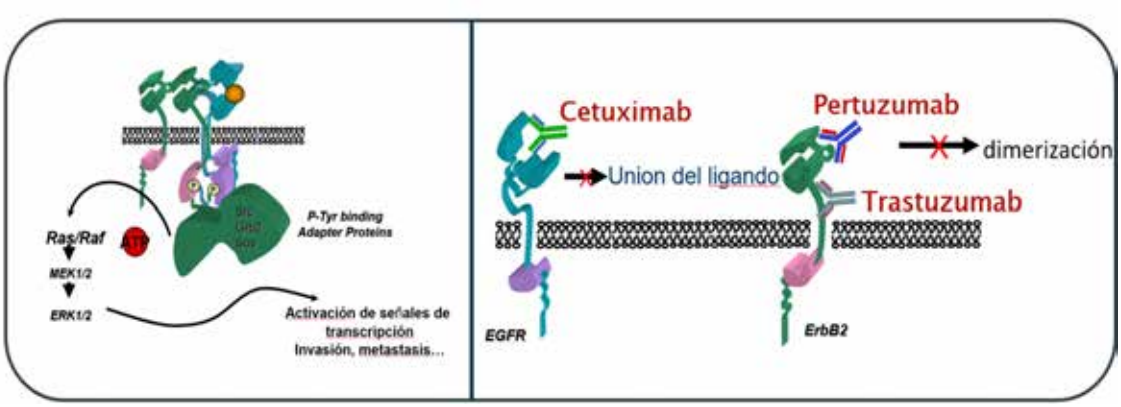
10. Mur P, Viana-Errasti J, García-Mulero S, y cols. Recommendations for the classification of germline variants in the exonuclease domain of POLE and POLD1. Genome Med. 2023;15(1):85. Published 2023 Oct 17. doi:10.1186/s13073-023-01234-y

## ALTERACIONES EN LA VÍA EGFR

### KRAS (virus del sarcoma murino Kirsten)

KRAS es un proto-oncogen que codifica una GTPasa, parte de la cascada RAS/MAPK implicada en la proliferación, supervivencia, y diferenciación celular (Figura 1). Las mutaciones en el gen KRAS permiten una activación constitutiva de las señales estimuladoras que condicionan la proliferación de células tumorales, invasión y potencialmente metástasis. Además, parece que KRAS juega un papel en la escapada inmune en el microambiente tumoral.

**Figura 1.** Receptor ErbB: dimerización y cascadas de activación e intervención farmacológica.

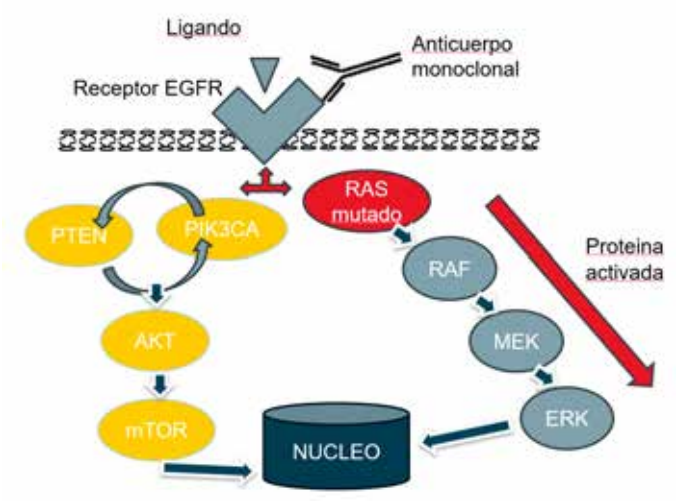



La mayoría de las mutaciones (80 %) se concentran en los codones 12 y 13 del exón 2: G12D (glicina a aspartato), G12V (glicina a valina), G12C (glicina a cisteína), G12A (glicina a Alanina) y G13D (6.68 %, glicina a glutamina) (1). Otras mutaciones menos frecuentes incluyen: codón 61 del exón 3 (5 %, Q61H, Q61L y Q61R) y del codón 146 del exón 4 (4 %, A146TY y A146V).

Las mutaciones en KRAS se han asociado a mal pronóstico en el carcinoma colorrectal metastásico y un curso agresivo comparado con tumores no mutados (KRAS nativo). Las mutaciones de RAS(K/N) pueden ser mutuamente excluyentes con otras mutaciones en RAS y BRAF.

El tratamiento estándar del carcinoma colorrectal incluye protocolos como FOLFOX (oxaliplatino, 5-FU, leucovorina) o FOLFIRI (irinotecan, 5-FU, leucovorin) y bloqueantes de EGFR (cetuximab, panitumumab…). Los bloqueantes de la via de EGFR solo son efectivos en tumores con KRAS nativo, ya que la presencia de mutación en KRAS conduce a la aceleración continuada de señales de activación en la cascada RAS/MAPK (Figura 2).

**Figura 2.** señales de activación de la cascada RAS/MAPK y efecto de las mutaciones en RAS.




Durante mucho tiempo las mutaciones en KRAS se han considerado una diana terapéutica no antagonizable. Sin embargo, avances recientes han conducido al descubrimiento de inhibidores específicos para las mutaciones KRAS G12C (Sotorasib y Adagrasib) (2), aunque estas mutaciones son poco frecuentes en el CCR (2-8 %), más comunes en mujeres. Se están desarrollando estudios clínicos en carcinoma colorrectal y pancreático con inhibidores para G12D (MRTX1133), pero los resultados son todavía preliminares. Aunque los resultados han sido prometedores, las respuestas completas son raras y con frecuencia se desarrolla resistencia al tratamiento con inhibidores de KRAS.

**NRAS (homólogo del oncogén viral RAS en neuroblastoma)**

Al igual que KRAS, NRAS codifica una GTPasa implicada en vías de señalización celular incluyendo proliferación, supervivencia celular y diferenciación. Las mutaciones son menos comunes que las de KRAS y se encuentran entre el 3-5 % de pacientes con carcinoma colorrectal y generalmente se asocian a una peor supervivencia global y libre de progresión (3). También se ha descrito que las mutaciones en NRAS se asocian a peor pronóstico en pacientes que han sido tratados con resecciones de hígado por metástasis y mayor riesgo de desarrollo de metástasis pulmonares. Al contrario que KRAS (cuyas mutaciones son más frecuentes en tumores de colon proximal), las mutaciones de NRAS son más frecuentes en colon izquierdo.

Las mutaciones se localizan con mayor frecuencia en los exones 2, 3 y 4, afectando principalmente a los codones 12, 13, 59, 61 y 117. De igual manera estas mutaciones conducen a una activación constitutiva de la proteína NRAS y predicen falta de respuesta a los fármacos inhibidores de EGFR.

**BRAF (proteína cinasa de serina/treonina del protooncogén B-Raf)**

Un 8-12 % de pacientes con carcinoma colorrectal son portadores de mutaciones en BRAF y son más frecuentes en mujeres, tumores de colon derecho/proximales, presentación en estadio avanzado, histología mucinosa y se asocian a tumores con dMMR/MSI y cáncer colorrectal serrado.

En los estadios iniciales las mutaciones son menos frecuentes y no se asocian a mal pronóstico. Sin embargo, en pacientes con metástasis el pronóstico es malo en pacientes con BRAF mutado.

Las mutaciones de BRAF son más frecuentes en los tumores con fenotipo CMS1 (MSI-inmune) caracterizados por estadio hipermutado, inestabilidad de microsatélites e infiltrado inmune (4). Estudios de expresión génica han dividido los tumores con mutación de BRAF en dos grupos: 1) B1

(30 %), caracterizado por activación de KRAS/AKT, disregulación de mTOR/4EBP1 y transición epitelial-mesenquimal. 2) B2 (70 %) exhiben desregulación del ciclo celular y están enriquecidos en procesos metabólicos con alta expresión de CDK1 y bajos niveles de ciclina-D1 (5).

Entre todas las mutaciones de BRAF la más frecuente en tumores metastásicos es V600E, una mutación puntual en el exón 15 que conlleva a una sustitución del aminoácido valina por glutamina en el codón 600. Esta mutación incrementa la actividad fisiológica de la cinasa en una magnitud de 500-700 veces. La mutación V600E se considera de «clase 1» con activación de la proteína independientemente de la actividad de RAS y las mutaciones en RAS(K/N) y BRAF V600E suelen ser mutuamente excluyentes. Otras posibles mutaciones de clase 1 son V600D, V600M, V600R y V660K. Sin embargo, hasta el 20 % de carcinomas colorectal metastásicos tienen mutaciones «clase 2» y «clase 3», distintas de V600E, con menor actividad cinasa y generalmente se asocian a mejor pronóstico comparadas con BRAF V600E (clase 1) (6). Las mutaciones de clase 2 (L597Q/R/S/V, G464V/E, G496A/V/R, K601 E/NT…) están constitutivamente activadas como dímeros. Las de clase 3 tienen una actividad cinasa alterada («kinase-dead») e incluyen D594N, G466E y G466V.

En términos de tratamiento, la presencia de BRAF V600E predice falta de respuesta a inhibidores de EGFR en pacientes con carcinoma colorrectal metastásico y el tratamiento de elección es la quimioterapia asociada con inhibidores de VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), como bevacizumab. Los inhibidores de BRAF en monoterapia no están indicados porque conducen a una sobreregulación de la vía de EGFR y se requiere la adición de otro agente que inhiba la vía (inhibidor de MAPK o PI3K). El estudio clínico BEACON (fase 3) ha confirmado que añadir un inhibidor de EGFR (cetuximab) o de MAPK (binimetinib) a encorafenib (inhibidor de BRAF), en doble o triple régimen, incrementa la supervivencia general y la mediana de supervivencia global en tumores metastásicos con mutación V600E de BRAF (7).

Los datos sobre respuesta a tratamiento de los tumores con mutaciones de clase 2 y 3 son escasos, pero se ha postulado que las mutaciones de clase 2 conllevan resistencia a inhibidores de BRAF (vemurafenib, dabrafenib o encorafnib) ya que estos agentes actúan fundamentalmente contra monómeros de BRAF. Por el contrario, las mutaciones de clase 3 pueden responder mejor a inhibidores de EGFR ya que la vía de señalización está sobreregulada.

**HER2 (receptor del factor de crecimiento epidérmico 2)**

Erb-B2 o HER2, es un proto-oncogen localizado en el cromosoma 17q21 que codifica una glucoproteína transmembrana que no se une a ligandos pero que forma homo-dímeros o hetero-dímeros con otros miembros de la familia EGFR (HER1, HER3 y HER4). La amplificación del gen conduce a la activación de señales mitogénicas, proliferación celular y tumorigénica.

Se detectan alteraciones en HER2 en un 3-5 % de los carcinomas colorrectales metastásicos, tanto amplificaciones como mutaciones, más frecuentemente en localización distal. Se estima que entre el 5-6 % de carcinomas colorrectales KRAS nativo y estadio IV tienen sobreexpresión de HER2.

Aunque es bien conocido el efecto negativo predictivo de HER2 y respuesta a inhibidores de EGFR, el papel de HER2 como una nueva diana terapéutica se ha explorado en varios ensayos clínicos. El ensayo HERACLES (doble inhibición con trastuzumab y lapatinib en pacientes con KRAS exón 2 nativo y sobreexpresión de HER2) demostró una mejor tasa de respuesta objetiva (ORR), mediana de supervivencia libre de progresión (mSLP) y supervivencia global (mSG) en tumores HER2 positivos (8).

Un aspecto crítico es la determinación de HER2 (tanto por inmunohistoquímica como por ISH/FISH) ya que hay diferentes algoritmos dependiendo del tipo de tumor y localización. No existe consenso para la determinación de HER2 en carcinoma colorrectal, lo que se traduce en resultados dispares en varios estudios publicados, pero la mayoría de los investigadores se inclinan por aplicar los criterios específicos utilizados en el ensayo HERACLES (9).

La introducción de «anticuerpos conjugados a fármacos» (ACF) consigue actividad antitumoral mediante la inhibición de varias vías celulares. Estos tratamientos combinan un anticuerpo específico contra un antígeno tumoral y una droga citotóxica, lo que permite la introducción de fármacos citotóxicos en las células malignas. El ensayo clínico DESTINY-CRC01 (fase 2) ha investigado la eficacia de trastuzumab deruxtecan (T-Dxd) en pacientes con carcinoma colorrectal HER2 positivo previamente tratados con resultados positivos en términos de tasa de respuesta objetiva (10).

**Bibliografía**


1. Fernández Montes A, Alonso Orduña V, Asensio Martínez E, y cols. The Frequency of Specific KRAS Mutations, and Their Impact on Treatment Choice and Survival, in Patients With Metastatic Colorectal Cancer. The Ocologist 2023; 28(10): e902-9
2. Huang L, Guo Z, Want F, Fu L KRAS mutation: from undruggable to druggable in cancer. Sig Transduct Target Ther 2021; 6: 386
3. Hu Y, Tao SY, Deng JM, y cols. Prognostic Value of NRAS Gene for Survival of Colorectal Cancer Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. Asian Pac J Cancer Prev 2018;19(11):3001-8.
4. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, y cols. The consensus molecular subtype of colorectal cancer. Nat Med 2015; 21(11):1350-6.
5. Barras D, Missiaglia E, Wirapati P, y cols. BRAF V600E mutant colorectal cancer subtypes based on gene expression. Clin Cancer Res 2017; 23: 104-15.
6. Jones JC, Renfro LA, Humaid O A-S,. y cols. Non-V600 BRAF mutations define a clinically distinct molecular subtype of metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol 2017;35(23):2624–30.
7. Kopetz S, Grothey A, Yaeger R, y cols Encorafenib, binimetinib, and cetuximab in BRAF V600E-mutated colorectal cancer. N Engl J Med. 2019;381:1632-43.
8. Sartore-Bianchi A, Trusolino L, y cols. Dual-targeted therapy with trastuzumab and lapatinib in treatment-refractory, KRAS codon 12/13 wild-type. Lancet Oncol. 2016;17: 738-46.
9. Valtorta E, Martino C, Sartore-Bianchi A, y cols HER2-positive metastatic colorectal cancer (HERACLES): a proof-of-concept, multicentre, open-label, phase 2 trial. Assessment of a HER2 scoring system for colorectal cancer: results from a validation study. Mod Pathol 2015; 28:1481-91.
10. Yoshino T, Di Bartolomeo M, Raghav K, y cols. Final results of DESTINY-CRC01 investigating trastuzumab deruxtecan in patients with HER2-expressing metastatic colorectal cancer. Nat Comm 2023;14:3332

**FUSIONES GENICAS EN ALK, ROS1 Y NTRK**

En los estudios de fusiones genéticas de ALK, ROS1 y NTRK en el cáncer colorrectal metastásico (mCRC) se han observado características moleculares y clínicas diversas. Estas fusiones son alteraciones genéticas raras que se observan en un pequeño porcentaje de pacientes con mCRC (0,2 %-2,4 %), pero su identificación es crucial debido a sus implicaciones pronósticas y terapéuticas (1, 2, 3).Los trabajos orientados a caracterizar el contexto clínico y molecular de las fusiones ALK, ROS1 y NTRK en pacientes con mCRC indican que su presencia define un nuevo subtipo molecular de mCRC con un pronóstico desfavorable y resistencia a tratamientos convencionales. La identificación y manejo adecuado de estos casos, mediante estrategias personalizadas, podría mejorar significativamente el pronóstico clínico de estos pacientes (1, 2, 3).

Las fusiones genéticas se asocian de forma significativa a tumores localizados en el colon derecho en el 80 % de los casos, característica que se solapa con tumores MSI-H. Los pacientes con estas fusiones suelen ser mayores (mediana de edad: 64 años) y tienen una mayor frecuencia RAS y BRAF nativos. Existen datos de una fuerte asociación entre estas fusiones y la inestabilidad de microsatélites (MSI-H), presente en el 48,1 % de los casos con fusiones, en comparación con sólo el 8,1 % en el grupo control.

Por otro lado, los pacientes con fusiones ALK, ROS1 o NTRK tienen un peor pronóstico, con una mediana de supervivencia global de 15,6 meses frente a 33,7 meses en el grupo sin fusiones. Este peor pronóstico es independiente de otros factores como el estado MSI o la localización del tumor.

Los pacientes con tumores fusionados tratados con anticuerpos anti-EGFR (cetuximab o panitumumab) presentan resistencia primaria. Sin embargo, algunos pacientes muestran respuesta favorable a inhibidores de ALK, ROS1 y TrkA-B-C, como entrectinib o ceritinib, aunque se ha visto que los beneficios son transitorios debido al desarrollo de resistencia adquirida (3).

Así pues, en conclusión, la identificación de fusiones ALK, ROS1 y NTRK en pacientes con mCRC, especialmente de colon derecho, MSI-H y RAS/BRAF nativo evitaría tratamientos usuales ineficaces, como los anti-EGFR, en este subgrupo y sugeriría el uso de tratamientos dirigidos con inhibidores de ALK, ROS1 y TrkA-B-C. Se están explorando combinaciones con inmunoterapia en tumores MSI-H (4).

**Bibliografía**

1. Baranov E, Nowak JA. Pathologic Evaluation of Therapeutic Biomarkers in Colorectal Adenocarcinoma. Surg Pathol Clin. 2023 Dec;16(4):635-50.

2. Underwood PW, Ruff SM, Pawlik TM. Update on Targeted Therapy and Immunotherapy for Metastatic Colorectal Cancer. Cells. 2024; 13(3):245.

3. Johnson D, Chee CE, Wong W, Lam RCT, Tan IBH, Ma BBY. Current advances in targeted therapy for metastatic colorectal cancer - Clinical translation and future directions. Cancer Treat Rev. 2024

4. Pietrantonio F, Di Nicolantonio F, Schrock AB, y cols. ALK, ROS1, and NTRK Rearrangements in Metastatic Colorectal Cancer. J Natl Cancer Inst. 2017 Dec 1;109(12).

## SECUENCIACIÓN GENÓMICA MASIVA (NGS) EN CCR

Se recomienda la secuenciación con NGS en pacientes con CRC metastásico (mCRC) para identificar mutaciones en RAS (KRAS/NRAS), BRAF y fusiones de NTRK, así como para evaluar la inestabilidad de microsatélites (MSI-H) (1). La identificación de biomarcadores como HER2 y el análisis de la carga mutacional tumoral (TMB) pueden ser utilizados para guiar tratamientos inmunitarios y dirigidos (2, 3).

La NGS es además una herramienta útil para monitorizar mutaciones emergentes de resistencia antes de tratar nuevamente con agentes dirigidos, como por ejemplo fármacos anti-EGFR.

Algunas de las ventajas del uso de NGS descritas en la literatura se mencionan a continuación:

- Alta sensibilidad y especificidad: La principal ventaja es poder determinar simultáneamente múltiples alteraciones genéticas en una única prueba.
- Información pronostica y predictiva: Su principal contribución es determinar el pronóstico del paciente al poder predecir la respuesta a tratamientos específicos.
- Adaptabilidad en contextos clínicos diversos: Útil tanto en tejidos tumorales como en biopsias líquidas para casos donde en los que no se dispone de muestra sólida (2, 3).
- Existen paneles dirigidos:
    - RAS: KRAS, NRAS.
    - Fusiones: ALK, ROS1, NTRK, *RET*.
    - Otros genes de interés en cáncer colorrectal: BRAF, PIK3CA, *TP53* y MSI (inestabilidad microsatélites).

Como limitaciones cabe recordar que los resultados de la NGS aportan una gran cantidad de información y los datos generados requieren interpretación experta por parte de biólogos moleculares, oncólogos y patólogos para asegurar decisiones clínicas efectivas (1). Además, la aplicación de NGS depende de la infraestructura del laboratorio y los recursos económicos disponibles en los distintos centros sanitarios, por lo que se puede ver limitada su aplicación en ciertas regiones (1, 3).

### Bibliografía

1. Bonilla CE, Montenegro P, O'Connor JM, y cols. Ibero-American Consensus Review and Incorporation of New Biomarkers for Clinical Practice in Colorectal Cancer. Cancers. 2023; 15(17):h4373.

2. Fernández Montes A, Alonso V, Aranda E, y cols. SEOM-GEMCAD-TTD clinical guidelines for the systemic treatment of metastatic colorectal cancer (2022). Clin Transl Oncol. 2023 Sep;25(9):2718-31.

3. Navarro S, Cuatrecasas M, Hernández-Losa J, y cols. Actualización de la recomendación para la determinación de biomarcadores en el carcinoma colorrectal. Consenso Nacional de la Sociedad Española de Oncología Médica y de la Sociedad Española de Anatomía Patológica [Update of the recommendations for the determination of biomarkers in colorectal carcinoma. National Consensus of the Spanish Society of Medical Oncology and the Spanish Society of Pathology]. Rev Esp Patol. 2021 Jan-Mar;54(1):41-54. Spanish.

## BIOPSIA LÍQUIDA EN CCR METASTÁSICO

Existen numerosos estudios y ensayos clínicos que han puesto de manifiesto las ventajas que ofrece la biopsia líquida para la medicina de precisión y en concreto para el manejo del CCR (1).

La biopsia líquida es un método poco invasivo que permite la obtención, entre otros, de células tumorales circulantes (CTC), células madre tumorales circulantes (CTSC), ADN tumoral circulante (ctADN), exosomas, ARN mensajero (mARN), microARN (miARN) y proteínas.

En el CCR, la biopsia líquida puede evitar los errores de muestreo debidos a la heterogeneidad tumoral producida en la toma directa de muestras tisulares. También puede usarse para estimar el riesgo de padecer CCR, mediante la detección de mutaciones de unos pocos genes.

Sus desventajas están relacionadas con la aparición de falsos negativos y positivos. Así, los altos niveles de fragmentación de los ácidos nucleicos o la escasa cantidad de muestra ocasionan falsos negativos. Sin embargo, se pueden producir falsos positivos por la presencia de CTC, exosomas o clonas hematopoyéticas en individuos sanos. El género, el peso corporal o el sistema inmunitario modifican la detección o cuantificación de las CTC. Para suplir estas deficiencias, muchas investigaciones están centradas en la identificación de controles sanos. Por otro lado, aún no existen métodos estandarizados, trasladables al ámbito clínico, para el aislamiento, almacenamiento de las células y moléculas extraíbles de la biopsia líquida (2).

A pesar de las limitaciones señaladas, en muchos hospitales españoles se usa la biopsia líquida en CCR para el seguimiento de la enfermedad, la selección del tratamiento inicial y las modificaciones posteriores que hay que realizar a medida que aparecen resistencias. Se enumeran a continuación algunas de las determinaciones que se realizan en CCR y su utilidad directa:

- Mutaciones en RAS, BRAF, ERBB2, EGFR, FGFR, PI3KA, PTEN, AKT en ctADN mediante NGS. Cuantificación del número de copias de HER2 en ctADN de plasma.
    - Uso de los distintos tratamientos anti-EGFR, anti-BRAF-EGFR, antiHER2
    - Valoración de la respuesta e identificación de resistencias a los tratamientos citados, antes que haya signos en las pruebas de imagen o en las concentraciones de CEA.
- Carga mutacional (TMB), como signo de inestabilidad de microsatélites.
    - Selección de inmunoterapia.

## MARCADORES SEROLÓGICOS (DETERMINACIÓN DE CEA Y OTROS)

El antígeno carcinoembrionario (CEA) es la proteína sérica más usada para la detección y el diagnóstico de recidiva del CCR (2). Sin embargo, se trata de un marcador poco sensible.

Los estudios están identificando una serie de proteínas presentes en el suero de los pacientes con CCR en cantidades muy bajas, pero que tienen más sensibilidad que el CEA. Se requiere el uso de técnicas de amplificación. Estos marcadores pueden detectarse también en muestras de tejido. Entre ellas destacan:

- Proteínas útiles como biomarcadores independientes: Cyr 61, CA11-19, integrina- B6, FAM134B o TFF3.
- Paneles de proteínas, que pueden usarse como biomarcadores: inhibidores de la metaloproteinasa 1+ peptidil arginina deaminasa 1 + M2-PK+ CRP + MMP6

Pueden usarse como biomarcadores algunos genes presentes en el suero/plasma de los sujetos con CCR:

- Biomarcadores independientes: gen SEPT9 metilado o el gen SFRP2 metilado.
- Biomarcadores que son paneles con varios genes: SEPT9 + SDC2 metilados, ALX4+BMP3+NPTX2+RARB+SDC2+SEPT9+VIM metilados (3).

## MICROBIOMA

La microbiota es el conjunto de microorganismos que existen en un particular nicho, por ejemplo, nuestro sistema digestivo. El microbioma se refiere fundamentalmente al conjunto de genes de la microbiota, pero también se emplea para referirse a todas las moléculas químicas (incluyendo el ADN) de la microbiota.

Para el estudio de ambos en el intestino se pueden usar tanto el cultivo/análisis de las heces, como las muestras de la mucosa colónica. Por ejemplo, en tejido se pueden reconocer específicos microorganismos mediante hibridación in situ.

La microbiota cambia por aspectos como la dieta (y la geografía) o el uso de antibióticos, entre otros. Existen también diferencias entre el colon derecho y el izquierdo. Hay multitud de datos que relacionan la microbiota con la epidemiología del CCR. La microbiota de los pacientes con CRC es diferente a la de los individuos sanos. Su diversidad se correlaciona con la clasificación molecular del CCR.

Dentro de la microbiota, se han identificado algunos microorganismos especialmente relevantes para el manejo del CCR. Destacan: *Fusobacterium nucleatum* (Fn), *Escherichia coli* y *Bacteroides fragilis*. Actualmente el biomarcador más prometedor es el Fn. Fn es abundante en los CCR inestables y en el subtipo CMS1. Fn identifica CCR de pronóstico desfavorable; se asocia a proliferación tumoral, índice de metástasis y a quimiorresistencia a los tratamientos convencionales. Su uso en la práctica clínica exige más investigación (4, 5).

## Bibliografía


1. Johnson D, Chee CE, Wong W, Lam RCT, Tan IBH, Ma BBY. Current advances in targeted therapy for metastatic colorectal cancer - Clinical translation and future directions. Cancer Treat Rev. 2024 Apr;125:102700. doi: 10.1016/j.ctrv.2024.102700. Epub 2024 Feb 24. PMID: 38422896.
2. Bagheri R, Ghorbian M, Ghorbian S. Tumor circulating biomarkers in colorectal cancer. Cancer Treat Res Commun. 2024;38:100787. doi: 10.1016/j.ctarc.2023.100787. Epub 2023 Dec 22. PMID: 38194840.
3. Islam MS, Gopalan V, Lam AK, Shiddiky MJA. Current advances in detecting genetic and epigenetic biomarkers of colorectal cancer. Biosens Bioelectron. 2023 Nov 1;239:115611. doi: 10.1016/j.bios.2023.115611. Epub 2023 Aug 19. PMID: 37619478.
4. Bullman S, Pedamallu CS, Sicinska E, y cols. Analysis of Fusobacterium persistence and antibiotic response in colorectal cancer. Science. 2017 Dec 15;358(6369):1443-1448. doi: 10.1126/science.aal5240. Epub 2017 Nov 23. PMID: 29170280; PMCID: PMC5823247.
5. Dadgar-Zankbar L, Elahi Z, Shariati A, Khaledi A, Razavi S, Khoshbayan A. Exploring the role of Fusobacterium nucleatum in colorectal cancer: implications for tumor proliferation and chemoresistance. Cell Commun Signal. 2024 Nov 15;22(1):547. doi: 10.1186/s12964-024-01909-y. PMID: 39548531; PMCID: PMC11566256.

## CONCLUSIONES

La identificación de biomarcadores ha permitido el desarrollo de estrategias de medicina personalizada, transformado significativamente el abordaje diagnóstico y terapéutico del CCR, especialmente en estadios avanzados:

- La deficiencia del sistema MMR y la inestabilidad de microsatélites (MSI) son biomarcadores con valor pronóstico y predictivo reconocido tanto en estadios localizados como avanzados. Actualmente, la presencia de MSI es la principal indicación de inmunoterapia en estos pacientes. La identificación de estas alteraciones es clave también para el diagnóstico del síndrome de Lynch.
- KRAS es un oncogén clave en la vía RAS/MAPK; sus mutaciones (principalmente en los codones 12 y 13) promueven la proliferación tumoral y la resistencia a inhibidores de EGFR en CCR.
- NRAS, menos común que KRAS, también predice resistencia a inhibidores de EGFR y se asocia a peor pronóstico, especialmente de los tumores de colon izquierdo.
- Las mutaciones KRAS G12C son tratables con inhibidores específicos como sotorasib y adagrasib, aunque son poco frecuentes y la resistencia al tratamiento sigue siendo un desafío.
- Las mutaciones en BRAF, particularmente V600E, confieren un peor pronóstico en tumores metastásicos y requieren tratamientos combinados (inhibidores de BRAF y EGFR) para mejorar la supervivencia.
- Las alteraciones en HER2 (3-5 % de los casos) representan una diana terapéutica prometedora; la doble terapia, como trastuzumab y lapatinib, o los anticuerpos conjugados (trastuzumab deruxtecan) han mostrado resultados positivos.
- La carga mutacional tumoral (TMB) es un biomarcador emergente que puede predecir la respuesta a inmunoterapia, aunque todavía no existe una estandarización o consenso en puntos de corte, lo que limita su aplicación clínica rutinaria en CCR.
- Las mutaciones patogénicas en los genes POLE y POLD1 causan un fenotipo ultramutado asociado a una TMB extremadamente elevada, con respuesta favorable a la inmunoterapia.
- La biopsia líquida permite la detección de mutaciones específicas (p. ej., RAS, BRAF, EGFR) útiles para la selección de tratamientos, seguimiento de la enfermedad y la identificación temprana de resistencia terapéutica, incluso antes de que esta sea clínica, radiológica o analíticamente evidente. Sin embargo, a pesar de su potencial, aún no existen métodos estandarizados para su análisis e interpretación, lo que limita su aplicación clínica más amplia.

# Recomendaciones del Grupo de Trabajo de Patología de Cabeza y Cuello de la SEAP

# Perfiles moleculares en los tumores malignos de glándula salival: importancia diagnóstica y terapéutica

**Elena Ruiz-Bravo[1], Justino Jiménez[2], Mónica García-Cosío[3], Joan Lop[4]**

1. *Anatomía Patológica Hospital Universitario La Paz, Madrid*
2. *Anatomía Patológica Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid*
3. *Anatomía Patológica Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid*
4. *Anatomía Patológica Hospital Universitario Clínic, Barcelona*

## INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se han descrito numerosas alteraciones moleculares en tumores de glándula salival. Muchas de estas alteraciones van a ser especialmente útiles con fines diagnósticos ya que son fusiones específicas del tipo de tumor, pero otras nos van a ofrecer información pronóstica o pueden ser predictivas de respuesta a determinados tratamientos, por lo que conocer estas alteraciones moleculares va a tener una gran relevancia en el manejo clínico de los pacientes[1-6].

En la Guía de práctica clínica ESMO-EURACAN[7] para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de neoplasias de glándula salival se incluye esta tabla suplementaria con un resumen de las principales alteraciones moleculares descritas en estos tumores (Tabla 1).

En la mayoría de los casos se trata de fusiones, pero no hay que olvidar que hay otros eventos genéticos recurrentes en tumores de salival que no son fusiones sino mutaciones, algunas de las cuales son también bastante específicas, como la mutación PRKD1 en la variante clásica de adenocarcinoma polimorfo o la mutación en el codón 61 de HRAS que se produce en la mayoría de los carcinomas epimioepiteliales.

En algunas ocasiones, estos descubrimientos han permitido definir un nuevo tipo de tumor, como el carcinoma secretor que se caracteriza por la fusión *ETV6::NTRAK3* y que ya se incluyó en la anterior clasificación de la WHO como nueva entidad[8]. En la última clasificación, la de 2022, se incluye otra nueva entidad, el adenocarcinoma microsecretor, caracterizado por la fusión *MEF2C::SS18*[9].

Así que lo cierto es que el número de carcinomas salivales sin una alteración molecular conocida se ha reducido considerablemente y sólo unos pocos siguen siendo verdaderos misterios.

Por otra parte, es probable que se definan nuevas entidades de carcinoma salival en el futuro, caracterizadas por alteraciones genéticas aún no descubiertas.

Así que, además de la importancia diagnóstica, pronóstica y terapéutica de las alteraciones moleculares, habría que añadir su importancia a la hora de mejorar la clasificación de estos tumores y definir nuevas entidades.

**Tabla 1.** Principales alteraciones moleculares descritas en tumores de glándula salival.

**Supplementary Table S4. Key molecular alterations in selected SGCs**

| Tumour type | Chromosomal alteration | Gene fusion/ rearrangement | Prevalence (%) |
|---|---|---|---|
| Secretory carcinoma[43,45] | *t(12;15)(p13;q25)*<br>*t(12;10)* | *ETV6-NTRK3*<br>*ETV6-RET* | 95<br>4.5 |
| Mucoepidermoid carcinoma[15] | *t(11;19)(q21;p13)*<br>*t(11;15)(q21;q26)* | *CRTC1-MAML2*<br>*CRTC3-MAML2* | 40-80<br>5 |
| Acinic cell carcinoma[22] | *t(4;9)(q13;q31)* | *NR4A3/NOR-1* | Majority |
| Adenoid cystic carcinoma[15] | *t(6;9)(q22-23;p23-24)*<br>*t(8;9)* | *MYB-NFIB*<br>*MYBL1-NFIB* | 25-80<br>10-20 |
| Polymorphous adenocarcinoma, classical variant[28] | *14q12* | Hotspot activating *PRKD1* somatic point mutation (E710D) | 20 |
| Polymorphous adenocarcinoma, cribriform variant[29] | *t(1;14)(p36.11;q12)*<br>*t(X;14)(p11.4;q12)* | *ARID1A-PRKD1*<br>*DDX3X-PRKD1*<br>*PRKD2* and *PRKD3* rearrangements | 24<br>13<br>16 |
| Salivary duct carcinoma[34-36] | *17q21.1*<br>*3q26.32* | *HER2* amplification<br>*PIK3CA*, *NRAS*, *HRAS*, etc mutation | 30<br>20 |
| Myoepithelial carcinoma[98] | | *CHCHD27-PLAG1*<br>*PLAG1-CTNNB1*<br>*PLAG1-LIFR* | |
| Epithelial-myoepithelial carcinoma[99,100] | | *HRAS* mutation, codon 61<br>*PIK3CA*<br>and/or *AKT1* | 82.7<br>20.7<br>6.5 |
| Intraductal carcinoma[32,33] | *inv(10)(q11.21q11.22)* | *NCOA4-RET*<br>*TRIM27-RET* | |
| Hyalinising clear cell carcinoma[101,102] | *t(12;22)(q13;q12)* | *EWSR1-ATF1*<br>*EWSR1-CREM* | 80-90<br>5 |
| Pleomorphic adenoma[36] | *t(3;8)(p21;q12)*<br>*t(5; 8)(p11;q12)* | *PLAG1-CTNNB1*<br>*PLAG1-LIFR*<br>Other *PLAG1* rearrangements<br>*HMGA2* rearrangements | |

SGC, salivary gland cancer.

El objetivo de este capítulo va a ser proporcionar un resumen práctico de estas alteraciones, pero antes veremos un recuerdo básico de las posibles alteraciones genómicas que pueden dar origen a tumores.

**Tipos de alteraciones genómicas**

Las alteraciones las podemos encontrar a varios niveles:

- Podemos tener alteraciones discretas a nivel del ADN, como:
  - Mutaciones puntuales
  - Inserciones o delecciones
- O bien, alteraciones genéticas más grandes, a nivel de los cromosomas, que pueden ser alteraciones en el número de copias, bien por amplificaciones de genes o por delecciones y en otras ocasiones lo que se producen son translocaciones.

Todos estos mecanismos pueden dar lugar a la activación de oncogenes o la inactivación de genes supresores de tumores y como consecuencia producir el desarrollo tumoral [10].

¿Y por qué es importante conocer a que nivel se produce la alteración genética?

Porque disponemos de distintas técnicas para la determinación de biomarcadores en la rutina y será más apropiado realizar unas u otras dependiendo del nivel en el que nos encontremos:

- A nivel del ADN o del gen, para estudiar mutaciones puntuales, amplificaciones o delecciones, utilizaremos técnicas basadas en PCR
- A nivel del cromosoma, si lo que queremos es detectar translocaciones podremos realizar técnicas de hibridación in situ.
- Y también tenemos la posibilidad de analizar proteínas siempre y cuando tengamos anticuerpos específicos para ello, mediante inmunohistoquímica.

A día de hoy estás técnicas son habituales en la práctica diaria y están disponibles en mayor o menor medida en muchos laboratorios de anatomía patológica. **La mayoría de las alteraciones moleculares descritas en glándula salival se van a poder estudiar con estos métodos monogénicos**.

¿Qué ventajas ofrece la secuenciación de nueva generación (NGS)?

A diferencia de las técnicas mencionadas anteriormente, la NGS es un método analítico poligénico, por lo que de forma simultánea podremos determinar multitud de biomarcadores.

¿Cómo afrontamos esta situación en la rutina? La pregunta que tendríamos que responder antes de realizar determinaciones moleculares sería ¿Cuántos marcadores necesitamos analizar?

Cuanto mayor sea el número de marcadores que queremos analizar, mayor será el coste, mayor será el tiempo de respuesta y mayor será la cantidad de tejido que necesitaremos. Así que, para optimizar recursos y la cantidad de tejido disponible, antes de realizar determinaciones esta es la pregunta que deberíamos hacernos. Si necesitamos analizar muchos marcadores acabará siendo más rentable la NGS.

## TIPOS DE ALTERACIONES MOLECULARES EN TUMORES DE GLÁNDULA SALIVAL

Cuando hablamos de alteraciones moleculares en tumores de glándula salival tenemos que tener en cuenta que hay alteraciones que son específicas de tipo tumoral y nos van a ayudar en el diagnóstico y hay otras que pueden no ser específicas de tumor pero son dianas terapéuticas.

Los estudios moleculares que el Colegio de Patólogos Americanos recomienda realizar en los tumores de glándula salival están recogidos en la Tabla 2[11]. De estas alteraciones la mayoría no tienen diana terapéutica en la actualidad, excepto las neoplasias que expresan receptores de andrógenos,

HER2 o NTRAK, por lo que en las recomendaciones de consenso para el uso de biomarcadores en cabeza y cuello de la SEAP-SEOM [12] también se recoge la necesidad de determinar estos tres receptores.

**Tabla 2.** Recomendaciones del Colegio de Patólogos Americanos de estudio de biomarcadores en tumores de glándula salival.

- **Carcinoma mucoepidermoide:**
  - Reordenamiento MAML2 (por métodos moleculares)
- **Carcinoma adenoide quístico**
  - MYB IHC
  - MYB Reordenamiento (por métodos moleculares)
  - MYB-L1 IHC
  - MYB-L1 Reordenamiento (por métodos moleculares)
- **Carcinoma ductal**
  - AR IHC
  - HER2 Immunohistochemistry
  - HER2 by in situ Hybridization
- **Carcinoma ex adenoma pleomorfo/adenoma pleomorfo**
  - PLAG1 IHC
  - PLAG1 Reordenamiento (por métodos moleculares)
  - HMGA2 IHC
  - HMGA2 Reordenamiento (por métodos moleculares)
- **Carcinoma secretor**
  - ETV6 Reordenamiento (por métodos moleculares)
  - NTRK Reordenamiento (por métodos moleculares)
- **Carcinoma de células claras (hialinizante)**
  - EWSR1 Reordenamiento (por métodos moleculares)

## TUMORES DE GLÁNDULA SALIVAL CON ALTERACIONES MOLECULARES QUE SON DIANA TERAPÉUTICA

### CARCINOMA DUCTAL

El carcinoma ductal es un tumor agresivo que se presenta a menudo en un estadio avanzado, con altas tasas de metástasis y recurrencia. Suele surgir en la glándula parótida de hombres mayores y microscópicamente se parece al carcinoma ductal de mama de alto grado, mostrando una proliferación de células tumorales con necrosis central tipo comedo[9].

#### Receptor de andrógenos (RA)

**La expresión de RA se produce en más del 90 % de los casos y esto nos sirve como herramienta diagnóstica**, ya que, aunque se ha descrito expresión de AR en otros tumores de glándula salival la expresión en estos casos suele ser de intensidad débil a moderada y focal. Los RA en el caso del carcinoma ductal muestran una intensidad homogénea, intensa y difusa, no sólo en el tumor primario si no también en las metástasis ganglionares o a distancia[13].

Los RA se determinan por IHQ. Se considera positiva la tinción nuclear de intensidad fuerte con un punto de corte que varía según autores entre el 1 y el 10 %, aunque actualmente no hay aceptado un

umbral para definir su positividad[13]. La positividad intensa y difusa parece que se correlaciona también con la respuesta al tratamiento antiandrogénico.

Es importante saber que en el adenocarcinoma de próstata la variante V7 del RA provoca resistencia al tratamiento antiandrogénico, pero en glándula salival no se sabe el significado que tiene y se precisaran más estudios al respecto[14]. Esta variante se puede detectar por IHQ y NGS.

**Amplificación del gen HER2**

Las similitudes entre el carcinoma ductal de glándula salival y el de mama también incluye la **amplificación del gen HER2** (16-83 %), que se produce entre el 16 % y el 83 % de los casos. Es importante destacar que otros tumores malignos pueden mostrar expresión o amplificación de HER2 y que su positividad puede correlacionarse con mayor agresividad[15].

- Carcinoma ductal: 29-46 %
- Carcinoma Ex-Adenoma pleomorfo: 39 %
- Adenocarcinoma NOS: 13 %
- Carcinoma mucoepidermoide: 5 %

La positividad para HER2 se mide por IHQ o por hibridación in situ (fluorescente, cromogénica o plata). Aunque se ha intentado establecer una escala para valorar la sobreexpresión de HER2 en glándula salival, no existen estudios validados todavía, por lo que se utilizan los mismos criterios que en el carcinoma de mama[12]. Se considera positivo 3+ cuando la tinción es circunferencial de membrana, completa e intensa en >10 % de las células. Cuando la expresión es equívoca deberemos completar el estudio mediante técnica de hibridación in situ (Tabla 3)[12].

**Tabla 3.** Criterios para la evaluación del estudio inmunohistoquímico HER-2 en tumores de glándula salival.

| |
|---|
| NEGATIVO (0): Ausencia de tinción o tinción de membrana en ≤ 10 % células tumorales |
| NEGATIVO (1+): Tinción de membrana débil y parcial en > 10 % células tumorales |
| EQUÍVOCO (2+): Tinción de membrana completa moderada/intensa en > 10 % células tumorales |
| POSITIVO (3+): Tinción de membrana completa e intensa en > 10 % células tumorales |
| En los casos EQUÍVOCOS debe realizarse hibridación in situ. |

**Otras alteraciones moleculares**

Cada vez hay más estudios que describen las características moleculares del carcinoma ductal. Además de la amplificación de HER2 se han detectado otras amplificaciones, así como múltiples mutaciones y fusiones de genes. La mayoría de las mutaciones recurrentes son oncogenes o genes supresores de tumores, que también se observan en tumores malignos de otros órganos. Muchos carcinomas ductales tienen alteraciones en la vía MAPK. También son comunes mutaciones en *TP53*, PIK3CA y pérdida o mutación de PTEN[16].

## CARCINOMA SECRETOR

El carcinoma secretor se describió por primera vez hace una década y comparte cambios morfológicos, inmunohistoquímicos y moleculares con el carcinoma secretor de mama[8].

Se caracteriza por mostrar microquistes con material de secreción en las luces y por presentar la fusión *ETV6:: NTRAK3*, que está presente en el 90 % de los casos y es diagnóstica de la entidad[8].

La mayoría de estos tumores son de bajo grado y curables por cirugía, pero hay casos con trasformación a alto grado (muy agresivos) [17] y en estos casos se le pueden ofrecer terapias diana con inhibidores de TRK.

También se han descrito casos raros de carcinoma secretor con histología de alto grado y comportamiento agresivo en asociación con *ETV6::MET* y fusiones *ETV6::RET*, que responderían a terapias diana con inhibidores RET[18].

### Métodos de determinación de fusiones NTRAK

Existen 3 genes NTRAK que codifican las proteínas del receptor tirosin cinasa (NTRAK1, NTRAK2 y NTRAK3). Las técnicas más usadas para estudiar las fusions de NTRAK son la inmunohistoquímica, la hibridación in situ fluorescente (FISH) y la secuenciación de nueva generación (NGS)[19]

**La IHQ puede utilizarse como método de screening** ya que identifica la sobreexpresión de los tres genes, pero sin diferenciarlos entre ellos, aunque la positividad nuclear se ha descrito en la fusión con NTRAK3. El patrón nuclear de tinción inmunohistoquímica pan-TRK tiene una buena sensibilidad para detectar la fusión *ETV6::NTRK3*, sin embargo, esta immunotinción puede pasar por alto otras fusiones menos frecuentes *como ETV6::RET, ETV6::MET, y VIM::RET*, solo detectadas por métodos moleculares.

**La técnica de FISH confirma o descarta la fusión de NTRAK** en casos de positividad de la IHQ. Es preciso realizar tres FISH: NTRAK1, NTRAK2, NTRAK3. Si por IHQ la positividad es nuclear será suficiente la confirmación con FISH para NTRAK3. La Interpretación no está estandarizada; se recomienda valorar un mínimo 50 células con un punto de corte de núcleos positivos del 15-20 %[19].

En cuanto a la NGS, para la interpretación correcta de los resultados debe tenerse en cuenta que no todos los paneles incluyen los tres genes y el número de pares de fusión que teóricamente pueden ser detectado es variable. Por lo tanto, es necesario conocer no sólo el número de genes NTRAK del panel, sino también el número de pares de fusión. Los paneles de ARN han demostrado mayor sensibilidad que los de ADN, por lo tanto si utilizamos un panel de ADN y es negativo hemos de confirmar esa negatividad por otras técnicas especialmente si la positividad de la IHC es incuestionable. Si la calidad del ARN no es suficiente es imprescindible confirmar o descartar la presencia de fusiones de NTRAK repitiendo la prueba en otro bloque de parafina o utilizando una segunda técnica de confirmación[19].

A modo de resumen:

- La IHQ es la técnica más asequible, tiene una elevada sensibilidad y es rápida. Como desventajas: la especificidad es desconocida y la interpretación no está estandarizada
- El FISH tiene una elevada sensibilidad y especificidad y es accesible aunque hay hospitales que todavía no lo tienen. Desventajas: deben utilizarse tres pruebas y la interpretación tampoco está estandarizada
- La NGS también tiene una elevada sensibilidad y especificidad y muy importante, permite el estudio concomitante con otros targets. Desventajas: el acceso es limitado, es caro, tiene menor sensibilidad con paneles de ADN y además el tiempo de respuesta es más prolongado.

El algoritmo recomendado en tumores con alta prevalencia de fusión NTRAK, como el carcinoma secretor, es realizar directamente FISH para confirmar la positividad esperada, si está disponible en el centro y si el resultado es negativo realizar un panel amplio de NGS. Si en el centro no está disponible el FISH enviar a centro de referencia[19].

## TUMORES DE GLÁNDULA SALIVAL CON ALTERACIONES MOLECULARES QUE SON DIAGNÓSTICAS

### CARCINOMA MUCOEPIDERMOIDE

Aproximadamente del 60 % al 80 % de los carcinomas mucoepidermoides (MEC) presentan una fusión específica del tipo de tumor *CRTC1::MAML2* que está presente en la mayoría de los MEC de grado bajo e intermedio y en algunos tumores de alto grado. También se ha descrito una rara variante de translocación t(11;15)(q21;q26) con fusión *CRTC3::MAML2* [4]

Parece que la falta de fusión *CRTC1::MAML2* en MEC se asocia con una peor supervivencia. Algunos autores sugieren que esta fusión negativa en tumores de alto grado en realidad sea porque se trata de otro tumor (por ejemplo carcinoma adenoescamoso) y no sea en realidad un MEC[4].

Entre los diversos tumores de las glándulas salivales, la fusión *CRTC1/3::MAML2* es específica para MEC y por lo tanto se puede utilizar como herramienta diagnóstica en casos problemáticos, siendo especialmente útil para ayudar a diagnosticar variantes raras de MEC, como el oncocítico o el de células claras, en los que el diagnóstico puede ser prácticamente imposible si no se realiza el test MAML2[20, 21,]. Y lo mismo ocurre con las variantes Warthin-like y esclerosante[22,2 3].

#### Método de determinación de fusiones MALM2

El método más empleado para estudiar las fusiones MAML2 es el FISH con el que podemos detectar los puntos de ruptura del gen[4]. También se puede detectar por NGS pero MAML2 no suele estar incluido en la mayoría de los paneles empleados en la práctica clínica diaria.

### CARCINOMA ADENOIDE QUÍSTICO

En los carcinomas adenoides quísticos (AdCC) está descrita la fusión de los genes MYB y NFIB (factor nuclear 1B), que está presente en alrededor del 55 % al 90 % de los casos, incluidos los tumores localizados fuera de cabeza y cuello. Aunque se ha descrito en gliomas de bajo grado, entre los tumores de glándula salival es específico de AdCC[24].

Esta fusión conduce a una sobreexpresión de proteína MYB y es la principal forma de activación de MYB, pero la sobreexpresión de MYB también puede ocurrir por ganancia en el número de copias o por otros reordenamientos. Esta sobreexpresión va a producir acumulación de proteína MYB que vamos a poder ver por IHQ.

Una minoría (~5 %) de AdCC muestra fusiones de genes alternativas, la mayoría *MYBL1::NFIB, MYB::X y NFIB::X*[24].

Un estudio reciente mostró otras fusiones más raras, pero a pesar de esta variedad, se cree que la mayoría de estas fusiones actúan provocando una sobreexpresión de la proteína Myb, lo que plantea la posibilidad de que puedan ser objetivo de futuros inhibidores de MYB[25].

MYB es un marcador diagnóstico robusto, pero de momento no es útil para el tratamiento de pacientes ya que actualmente no existen medicamentos sistémicos aprobados por la FDA para tratar el AdCC. Sin embargo, MYB está siendo investigado como un objetivo terapéutico, con estudios preliminares prometedores en estudios de laboratorio[26].

La falta de opciones de tratamiento para casos no quirúrgicos de AdCC ha llevado a la identificación de mutaciones activadoras de NOTCH1 en un subconjunto de pacientes con mal pronóstico y mayores tasas de metástasis a distancia[27] y actualmente están en curso ensayos clínicos de inhibidores de NOTCH1 para el tratamiento de AdCC con esta mutación[28].

**Métodos de determinación de la fusión/sobreexpresión MYB**

En cuanto a los métodos de determinación de MYB, se puede estudiar por **FISH** y por **IHQ**.

Teniendo en cuenta la variedad de alteraciones moleculares que puede producir la sobreexpresión de MYB parece que la IHQ es más sensible y específica[29] y permite una correcta identificación del estado de fusión de estos tumores, siendo especialmente útil en servicios sin acceso a técnicas más robustas.

## ADENOCARCINOMA MICROSECRETOR

El adenocarcinoma microsecretor es un tumor de bajo grado descrito recientemente con una fusión específica de tipo tumoral, la fusión *MEF2C::SS18*[9]

Su descubrimiento fue el resultado de los esfuerzos para caracterizar las alteraciones moleculares entre el grupo heterogéneo de carcinomas salivales, que no encajaba en las categorías disponibles y, por lo tanto, se agruparon colectivamente bajo el término general de «adenocarcinoma, no especificado de otro modo» (adenocarcinoma, NOS). La NGS de dichos tumores mostró una fusión *MEF2C::SS18* recurrente en cinco casos, que también compartían una morfología característica. Estaban constituidos por pequeños túbulos o microquistes que contienen abundantes secreciones luminales basófilas.

**Métodos de determinación de fusión *MEF2C::SS18***

Si bien esta fusión se ha detectado mediante la secuenciación de nueva generación (NGS), esta es una técnica que actualmente es inaccesible en la mayoría de los laboratorios de diagnóstico.

Sin embargo, el FISH para SS18 está ampliamente disponible y se usa con frecuencia como complemento para el diagnóstico del sarcoma sinovial. De acuerdo a la literatura revisada, el FISH SS18 es 100 % sensible y 100 % específico para el diagnóstico de adenocarcinoma microsecretor, por lo que parece ser un método altamente preciso para diagnosticar esta entidad[30]

En consecuencia, esta nueva entidad puede ser confirmada molecularmente sin necesidad de recurrir a técnicas altamente especializadas como la NGS.

## CARCINOMA HIALINIZANTE DE CÉLULAS CLARAS

El carcinoma hialinizante de células claras es un tumor de bajo grado que afecta principalmente a las glándulas salivales menores y que en la mayoría de los casos presenta la translocación t(12;22)(q21;q12) con la fusión *EWSR1::ATF1*[31]. Se ha descrito otra fusión más rara de *EWSR1::CREM*. Este tumor presenta analogías morfológicas, inmunohistoquímicas y moleculares con el carcinoma odontogénico de células claras[32].

La detección molecular en estos casos puede ser especialmente útil cuando se plantea el diagnóstico diferencial con otras neoplasias de glándula salival de células claras como el carcinoma mucoepidermoide de células claras o el carcinoma mioepitelial[31,33].

**Métodos de determinación de fusión *EWSR1:ATF1***

El FISH para EWSR1 es útil para el diagnóstico de esta entidad y se encuentra disponible en muchos centros ya que se utiliza para el diagnóstico del sarcoma de Ewing y otros tumores. La técnicas de NGS con paneles que incluyan EWSR1 también es válida y permite conocer el *partner.*

## CARCINOMA INTRADUCTAL

El carcinoma intraductal es un tumor raro de glándula salival que muestra gran heterogeneidad morfológica y molecular[34]. En la mayor parte de los casos son de bajo grado y presentan un curso indolente pero pueden mostrar comportamiento más agresivo con áreas de alto grado[35].

Se han descrito 4 subtipos (ducto intercalado, apocrino, oncocítico, mixto) con particularidades morfológicas, inmunohistoquímicas y moleculares[34]. El subtipo de ducto intercalado muestra reordenamientos de *RET* (*NCOA4:RET* y *KIAA1217:RET*)[36] y menos frecuentemente de ALK (*STRN:ALK*)[37] y los de tipo oncocítico la mutación de BRAF V600E y reordenamientos de *RET*. El subtipo apocrino presenta alteraciones moleculares similares al carcinoma ductal.

Aunque estos tumores son poco frecuentes, es recomendable el estudio de NGS en casos de carcinoma NOS en glándula salival porque pueden corresponder a formas «francamente invasivas» de estos tumores que podrían beneficiarse de tratamientos dirigidos[35].

## CARCINOMA DE CÉLULAS ACINARES

El carcinoma de células acinares hasta en un 84 % de los casos presenta translocación entre el *cluster* de genes SCPP y *NRA4A3* con t(4;9)(q13;q31)[38]. Se han descrito además reordenamientos de *MSANTD3* entre el 4 al 15 % de los carcinomas de células acinares siendo la más frecuente la translocación *MSANTD3-HTN3*[39].

Estas alteraciones moleculares se pueden detectar por NGS, sin embargo, la expresión nuclear por IHQ para NR4A3 (NOR1)[40] y NR4A2 (NURR1)[41] es positivo en el 98 % y 2 % de los casos respectivamente, y puede ser útil en casos con transformación a alto grado donde se pueden plantear más dificultades diagnósticas.

### Bibliografía


1. Seethala RR, Griffith CC. Molecular Pathology: Predictive, Prognostic, and Diagnostic Markers in Salivary Gland Tumors. Surg Pathol Clin 2016 Sep;9(3):339-52. doi: 10.1016/j.path.2016.04.002.
2. Kar A, Adeniji A, Rao VUS y col. Molecular landscape of salivary gland cancers. Oral Oncol 2020 May;104:104595. doi: 10.1016/j.oraloncology.2020.104595.
3. Skálová A, Hyrcza MD, Vaneček T y col. Fusion-positive salivary gland carcinomas. Genes Chromosomes Cáncer 2022 May;61(5):228-243. doi: 10.1002/gcc.23020.
4. Skálová A, Stenman G, Simpson RHW y col. The Role of Molecular Testing in the Differential Diagnosis of Salivary Gland Carcinomas. Am J Surg Pathol 2018 Feb;42(2):e11-e27. doi: 10.1097/PAS.0000000000000980.
5. Sarode SC, Sarode GS, Sharma NK. Salivary gland carcinomas and molecular chaos: Additional perspectives. Oral Oncol 2022 Apr;127:105802. doi: 10.1016/j.oraloncology.2022.105802.
6. Weaver AN, Lakritz S, Mandair D y col. A molecular guide to systemic therapy in salivary gland carcinoma. Head Neck 2023 May;45(5):1315-1326. doi: 10.1002/hed.27307.
7. van Herpen C, Vander Poorten V, Skalova A y col. Salivary gland cancer: ESMO-European Reference Network on Rare Adult Solid Cancers (EURACAN) Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. ESMO Open 2022 Dec;7(6):100602. doi: 10.1016/j.esmoop.2022.100602.

8. Skálová A, Vanecek T, Sima R y col. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands, containing the ETV6-NTRK3 fusion gene: a hitherto undescribed salivary gland tumor entity. Am J Surg Pathol 2010 May;34(5):599-608. doi: 10.1097/PAS.0b013e3181d9efcc.

9. WHO Classifcation of Tumours Editorial Board. Head and neck tumours. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2022. (WHO classifcation of tumours series, 5th ed.; vol. 9). https://publications.iarc.fr/

10. Macconaill LE, Garraway LA. Clinical implications of the cancer genome. J Clin Oncol 2010 Dec 10;28(35):5219-28. doi: 10.1200/JCO.2009.27.4944.

11. https://documents.cap.org/protocols/HN.Bmk_2.2.0.0.REL_CAPCP.pdf?_gl=1*tshy6o*_ga*MTMyNDY5NDUwMi4xNzIyNzc0ODk0*_ga_97ZFJSQQ0X*MTcyMjc3NDg5NC4xLjEuMTcyMjc3NDkwNC4wLjAuMA. Consultado el 4 de agosto de 2024.

12. Trigo J, García-Cosío M, García-Castaño A y col. Recommendations for the use of biomarkers for head and neck cancer, including salivary gland tumours: a consensus of the Spanish Society of Medical Oncology and the Spanish Society of Pathology. Clin Transl Oncol 2022 Oct;24(10):1890-1902. doi: 10.1007/s12094-022-02856-1.

13. Xu B, Dogan S, Haroon Al Rasheed MR y col. Androgen receptor immunohistochemistry in salivary duct carcinoma: a retrospective study of 188 cases focusing on tumoral heterogeneity and temporal concordance. Hum Pathol 2019 Nov;93:30-36. doi: 10.1016/j.humpath.2019.08.007.

14. Yang RK, Zhao P, Lu C y col. Expression pattern of androgen receptor and AR-V7 in androgen-deprivation therapy-naïve salivary duct carcinomas. Hum Pathol. 2019 Feb;84:173-182. doi: 10.1016/j.humpath.2018.09.009.

15. Egebjerg K, Harwood CD, Woller NC y col. HER2 Positivity in Histological Subtypes of Salivary Gland Carcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. Front Oncol. 2021 Jun 24;11:693394. doi: 10.3389/fonc.2021.693394.

16. Nakaguro M, Tada Y, Faquin WC y col. Salivary duct carcinoma: Updates in histology, cytology, molecular biology, and treatment. Cancer Cytopathol. 2020 Oct;128(10):693-703. doi: 10.1002/cncy.22288.

17. Skálová A, Vanecek T, Majewska H y col. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands with high-grade transformation: report of 3 cases with the ETV6-NTRK3 gene fusion and analysis of *TP53*, β-catenin, EGFR, and *CCND1* genes. Am J Surg Pathol 2014 Jan;38(1):23-33. doi: 10.1097/PAS.0000000000000088.

18. Skalova A, Vanecek T, Martinek P y col. Molecular Profiling of Mammary Analog Secretory Carcinoma Revealed a Subset of Tumors Harboring a Novel ETV6-*RET* Translocation: Report of 10 Cases. Am J Surg Pathol. 2018 Feb;42(2):234-246. doi: 10.1097/PAS.0000000000000972.

19. Garrido P, Hladun R, de Álava E y col. Multidisciplinary consensus on optimising the detection of NTRK gene alterations in tumours. Clin Transl Oncol. 2021 Aug;23(8):1529-1541. doi: 10.1007/s12094-021-02558-0.

20. Skálová A, Agaimy A, Stanowska O y col. Molecular Profiling of Salivary Oncocytic Mucoepidermoid Carcinomas Helps to Resolve Differential Diagnostic Dilemma With Low-grade Oncocytic Lesions. Am J Surg Pathol. 2020 Dec;44(12):1612-1622. doi: 10.1097/PAS.0000000000001590.

21. Skalova A, Leivo I, Hellquist H y col. Clear Cell Neoplasms of Salivary Glands: A Diagnostic Challenge. Adv Anat Pathol. 2022 Jul 1;29(4):217-226. doi: 10.1097/PAP.0000000000000339.

22. Bieńkowski M, Kunc M, Iliszko M y col. MAML2 rearrangement as a useful diagnostic marker discriminating between Warthin tumour and Warthin-like mucoepidermoid carcinoma. Virchows Arch. 2020 Sep;477(3):393-400. doi: 10.1007/s00428-020-02798-5.

23. Yabuki K, Matsuyama A, Shiba E y col. Sclerosing Mucoepidermoid Carcinoma in the Parotid Gland With CRTC1-MAML2 Fusion: A Case Report. Int J Surg Pathol. 2018 May;26(3):250-255. doi: 10.1177/1066896917742721.

24. Fujii K, Murase T, Beppu S y col. MYB, MYBL1, MYBL2 and NFIB gene alterations and MYC overexpression in salivary gland adenoid cystic carcinoma. Histopathology. 2017 Nov;71(5):823-834. doi: 10.1111/his.13281.

25. Shibata E, Morita KI, Kayamori K et al. Detection of novel fusion genes by next-generation sequencing-based targeted RNA sequencing analysis in adenoid cystic carcinoma of head and neck. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2021 Oct;132(4):426-433. doi: 10.1016/j.oooo.2021.03.020.

26. Yusenko MV, Trentmann A, Andersson MK y col. Monensin, a novel potent MYB inhibitor, suppresses proliferation of acute myeloid leukemia and adenoid cystic carcinoma cells. Cancer Lett. 2020 Jun 1;479:61-70. doi: 10.1016/j.canlet.2020.01.039.

27. Ferrarotto R, Mitani Y, Diao L y col. Activating NOTCH1 Mutations Define a Distinct Subgroup of Patients With Adenoid Cystic Carcinoma Who Have Poor Prognosis, Propensity to Bone and Liver Metastasis, and Potential Responsiveness to Notch1 Inhibitors. J Clin Oncol. 2017 Jan 20;35(3):352-360. doi: 10.1200/JCO.2016.67.5264.

28. Even C, Lassen U, Merchan J y col. Safety and clinical activity of the Notch inhibitor, crenigacestat (LY3039478), in an open-label phase I trial expansion cohort of advanced or metastatic adenoid cystic carcinoma. Invest New Drugs. 2020 Apr;38(2):402-409. doi: 10.1007/s10637-019-00739-x.

29. Poling JS, Yonescu R, Subhawong AP y col. MYB Labeling by Immunohistochemistry Is More Sensitive and Specific for Breast Adenoid Cystic Carcinoma than MYB Labeling by FISH. Am J Surg Pathol. 2017 Jul;41(7):973-979. doi: 10.1097/PAS.0000000000000878.

30. Bishop JA, Koduru P, Veremis BM y col. SS18 Break-Apart Fluorescence In Situ Hybridization is a Practical and Effective Method for Diagnosing Microsecretory Adenocarcinoma of Salivary Glands. Head Neck Pathol. 2021 Sep;15(3):723-726. doi: 10.1007/s12105-020-01280-7.

31. Alena Skalova, Ilmo Leivo y cols. Clear Cell Neoplasms of Salivary Glands: A diagnostic Challenge. Adv Anat Pathol 2022;29:217-226. doi: 10.1097/PAP.0000000000000339

32. Antonescu CR, Katabi N, Zhang L y col. EWSR1-ATF1 fusion is a novel and consistent finding in hyalinizyng clear-cell carcinoma of salivary gland. Genes Chromospmes Cancer. 2011 Jul;50(7):559-70. doi:10.1002/gcc.20881

33. Min-Shu Hsieh, Hsuang Wang y cols. Reevaluation of MAML2 fusion–negative mucoepidermoid carcinoma: a subgroup being actually hyalinizing clear cell carcinoma of the salivary gland with EWSR1 translocation. Human Pathology (2017) 61, 9–18. doi: 10.1016/j.humpath.2016.06.029

34. Lester D. R Thompson, Justin A. Bishop. Salivary Gland Intraductal Carcinoma: How Do 183 Reported Cases Fit Into a Developing Classification. Adv Anat Pathol. 2023 Mar 1;30(2):112-119. doi: 10.1097/PAP.0000000000000362

35. Anne C. McLean-Holden, Lisa M.Rooper y cols. Frankly Invasive Carcinoma Ex-intraductal Carcinoma: Expanding on an Emerging and Perplexing Concept in Salivary Gland Tumor Pathology. Head Neck Pathol. 2022 Sep;16(3):657-669. doi: 10.1007/s12105-021-01408-3

36. Ilan Weinreb, Justin A. Bishop y cols. Recurrent *RET* Gene Rearrangements in Intraductal Carcinomas of Salivary Gland. Am J Surg Pathol 2018;42:442–452) doi: 10.1097/PAS.0000000000000952

37. Hanna Majewska, Adam Gorczyńsk y cols. ALK alterations in salivary gland carcinomas. Virchows Archiv (2021) 478:933–941. doi: 10.1007/s00428-020-02971-w

38. M. Hasan Toper y Sulen Sarioglu. Molecular Pathology of Salivary Gland Neoplasms: Diagnostic, Prognostic, and Predictive Perspective. Adv Anat Pathol 2021;28:81–93. doi: 10.1097/PAP.0000000000000291

39. Andreasen S, Varma S, Barasch N y cols. The HTN3-MSANTD3 fusion gene defines a subset of acinic cell carcinoma of the salivary gland. Am J Surg Pathol. 2019;43:489–496. doi: 10.1097/PAS.0000000000001200

40. Florian Haller, MD, Alena Skálová y cols. Nuclear NR4A3 Immunostaining Is a Specific and Sensitive Novel Marker for Acinic Cell Carcinoma of the Salivary Glands. Am J Surg Pathol 2019;43:1264–1272. doi: 10.1097/PAS.0000000000001279

41. Florian Haller, Evgeny A. Moskalev. Nuclear NR4A2 (Nurr1) Immunostaining is a Novel Marker for Acinic Cell Carcinoma of the Salivary Glands Lacking the Classic NR4A3 (NOR-1) Upregulation. Am J Surg Pathol.2020 Sep;44(9):1290-2. doi: 10.1097/PAS.0000000000001494

# Displasia epitelial oral

**Mónica García-Cosío[1], Joan Lop[2], Justino Jiménez[3], Elena Ruiz-Bravo[1]**

1. *Anatomía Patológica Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid*
2. *Anatomía Patológica Hospital Universitario Clínic, Barcelona*
3. *Anatomía Patológica Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid*
4. *Anatomía Patológica Hospital Universitario La Paz, Madrid*

## INTRODUCCIÓN

Los trastornos orales potencialmente malignos[1,2,3] [TOPM] (leucoplasia, eritroplasia, fibrosis submucosa y lesiones mixtas) se definen clínicamente, y pueden o no contener displasia epitelial oral (DEO) histológicamente.

El término DEO es morfológico, y no tiene equivalente clínico. De hecho, es imprescindible una correlación clínica para establecer un diagnóstico histopatológico.

La presencia de displasia no es indicativa necesariamente de transformación maligna. En estudios de revisión sistemática y meta-análisis, sólo entre un 5-50 % de las DE sufren transformación maligna (TM), o lo que es lo mismo; mayoría de las DEO nunca van a evolucionar a carcinoma. Por otro lado, el tiempo que transcurre hasta la TM es muy variable entre unos pacientes y otros.

Las localizaciones con mayor riesgo de TM en los trastornos orales potencialmente malignos son: cara lateral/ventral de la lengua, área retromolar y suelo de la boca.

Las eritroplasias o leucoeritroplasias son clínicamente menos frecuentes que las leucoplasias, si bien se asocian con más frecuencia a DEO y tienen mayor riesgo de TM.

El concepto de DEO fue introducido hace 60 años[1], al reconocerse que algunas lesiones de la cavidad oral tienen el potencial de malignizarse. Desde entonces, ha habido varios intentos de gradar las displasias orales. Los criterios que se siguen actualmente son los de la clasificación de la WHO del 2022, si bien son difíciles de seguir por la variabilidad de interpretación intra e interobservador. Además, la clasificación de la WHO 2022 no establece de manera clara el umbral que separa la displasia de bajo y de alto grado.

## PATOLOGÍA MOLECULAR DE LA DISPLASIA EPITELIAL

El genoma del carcinoma epidermoide de la cavidad oral muestra una carga mutacional elevada y frecuentes alteraciones cromosómicas estructurales y numéricas. Aun así, todos ellos muestran activación desreguladora de un número limitado de vías oncogénicas, sobre todo WNT/β-catenina, PI3K/AKT/mTOR, JAK/STAT, RAS/RAF/MAPK y TGFβ[1,2].

Hay cierta controversia en relación a si el carcinoma oral se desarrolla de la acumulación progresiva de cambios moleculares (mutaciones y variabilidad cromosómica) de genes supresores y oncogenes a partir de lesiones displásicas o bien a partir de vías moleculares independientes. Sin embargo, la gran

cantidad de cambios genéticos que existen y la ausencia de conocimiento de su efecto biológico dificultan establecer el papel exacto de estas alteraciones en el desarrollo del carcinoma y de la DE.[2]

Las lesiones displásicas están constituidas por múltiples clones con distintas alteraciones genéticas que forman una estructura estable (estabilidad clonal) que van sufriendo cambios adicionales genéticos y a los que se añaden paulatinamente nuevos clones. En ocasiones la ventaja evolutiva de uno o más de estos clones puede resultar en la expansión de los mismos en zonas adyacentes, lo que se relaciona con la «cancerización de campo»[1,2]. La estabilidad clonal puede mantenerse durante largo tiempo, hasta que alguna o algunas alteraciones adicionales en uno o más clones les confieren capacidad de TM.

## CRITERIOS DE DISPLASIA EPITELIAL ORAL

Los criterios histopatológicos de DEO son los mismos independientemente del aspecto clínico macroscópico de la lesión (leucoplasia, eritroplasia y fibrosis submucosa).

Existen varios criterios consensuados para determinar una displasia y se sistematizan en criterios citológicos y criterios arquitecturales.

El conjunto de rasgos según los diferentes aumentos del microscopio sería el siguiente:

- A bajo aumento: cambios arquitecturales (FIGURA 1)
  - Arquitectura verrucosa o papilar
  - Hiperplasia epitelial marcada (más de 2-3 veces el grosor del epitelio normal) exofítica o endofítica
  - Hiperqueratosis con atrofia epitelial
  - Hiperqueratosis «en saltos» alternando con mucosa normal. Revelan límites irregulares de cambios clonales más que lesiones satélites.
  - Dermacación abrupta con la mucosa normal
  - Extensión de los cambios a ductos de glándulas menores
  - Crestas papilares en «gota» o «brote» o «bulbosas»
- A medio aumento: cambios en la organización (FIGURA 1 y FIGURA 2)
  - Queratinización temprana extensa
  - Discohesión celular
  - Pérdida de polaridad y estratificación irregular
  - Hiperplasia de células basales, formación de nidos/agregados de células basales
  - Mitosis superficiales
  - Perlas córneas en las crestas
  - Infiltrado liquenoide
- Cambios citológicos (a gran aumento, se ven en citología exfoliativa) (FIGURA 2)
  - Aumento del cociente núcleo/citoplasma
  - Pleomorfismo nuclear y celular
  - Incremento del número de mitosis y presencia de mitosis atípicas
  - Hipercromasia
  - Células con citoplasma esmerilado o células sueltas prematuramente queratinizadas (disqueratóticas)
  - Depleción del glucógeno celular

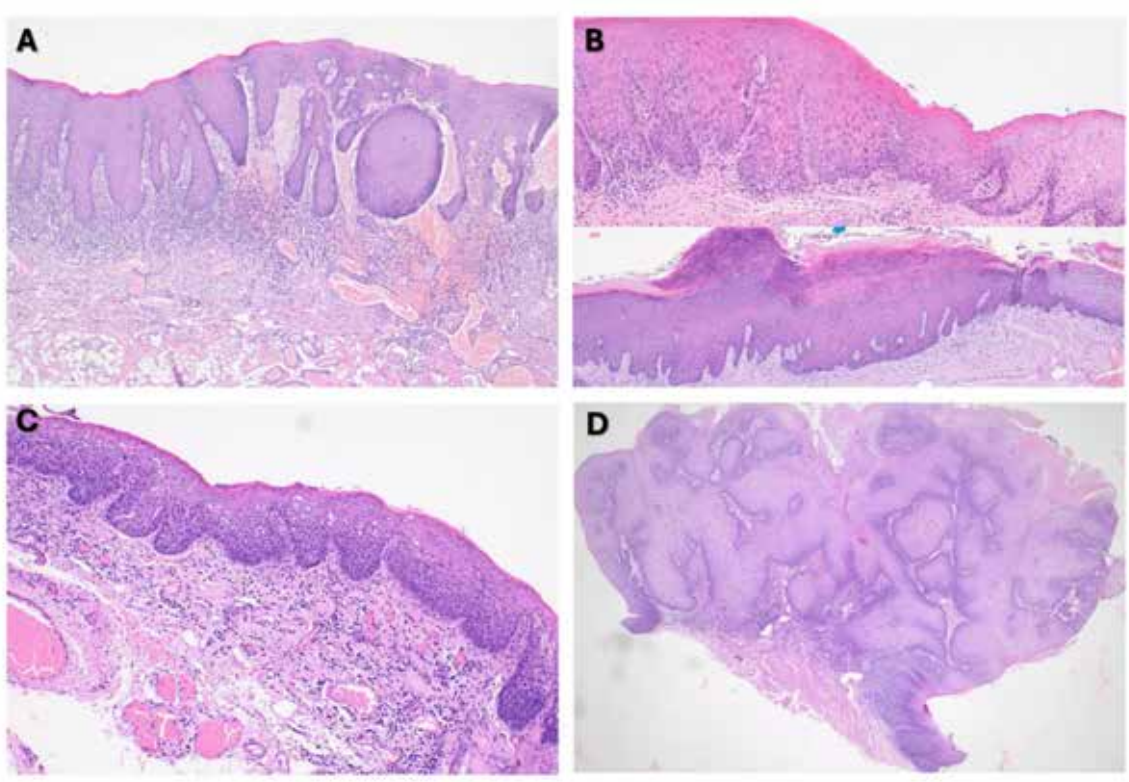
Cada rasgo de por sí no es específico, lo es la combinación varios rasgos lo que determina la displasia.

La hiperqueratosis no se considera un rasgo de displasia por sí sola, pero sí cambios en el patrón de queratinización (de pérdida a hiperqueratinización).

En uno de los estudios más citados sobre riesgo de TM en la DEO, los únicos criterios arquitecturales y/o citológicos que resultaron con un riesgo (HR) incrementado de TM fueron[10]:

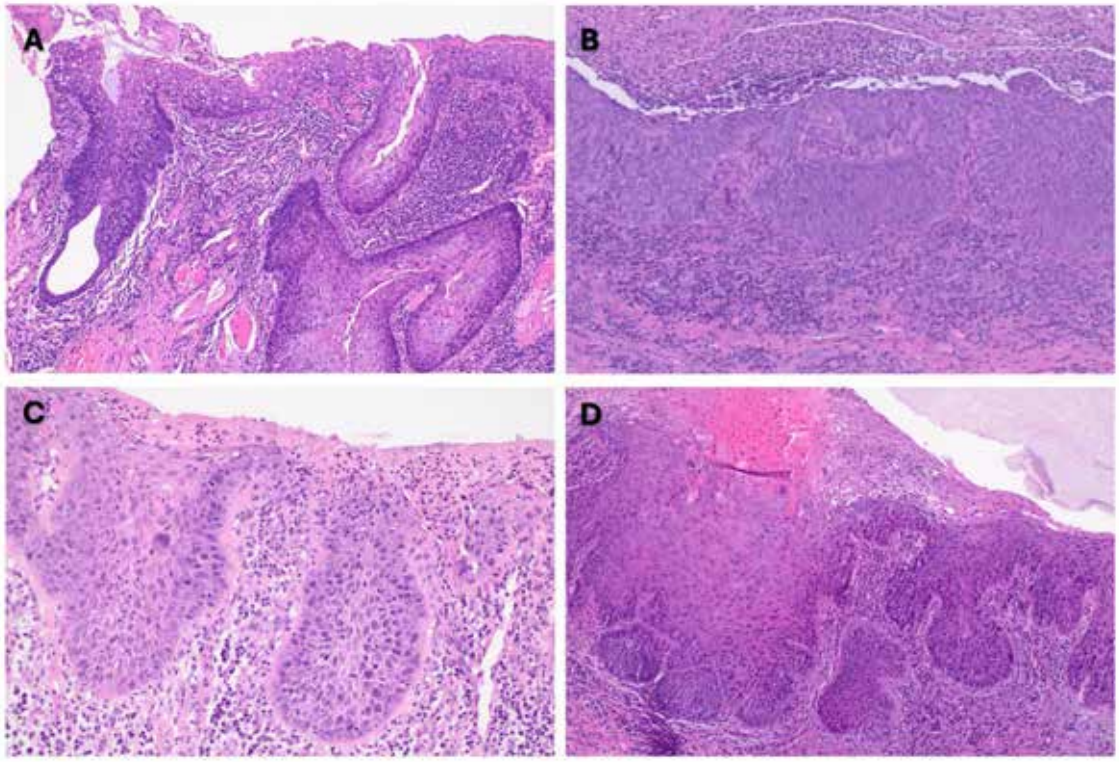
- Crestas de morfología bulbosa o ensanchada [CI 95 % HR: 1,92-35,68]
- Hipercromasia [CI 95 % HR: 1,08-8,15]
- Pérdida de la cohesión[CI 95 % HR: 1,57-9,14]
- Pérdida de la estratificación [CI 95 % HR: 1,94-14,73]
- Mitosis suprabasales [CI 95 % HR: 1,17-7,96]
- Pleomorfismo nuclear [CI 95 % HR: 1,49-9,38]

**Figura 1.** Cambios arquitecturales y en la organización de la DEO (a bajo y medio aumento): A) Hiperplasia epitelial marcada con crestas papilares bulbosas, presencia de infiltrado inflamatorio en patrón liquenoide y paraqueratosis. B) Demarcación abrupta de los cambios de displasia (derecha epitelio normal, izquierda displasia). C) Hiperplasia de células basales y perdida de polaridad con pleomorfismo. D) Hiperplasia verrucosa atípica. Casos propios Hospital Clínic, Barcelona.




Es importante conocer las particularidades morfológicas de las diferentes áreas de la mucosa oral[14] ya que estos cambios pueden presentar diferente valor. Por ejemplo, la mucosa de la encía y del paladar presentan de manera normal un cierto grado de queratinización debido al traumatismo de la masticación que no se observa en la mucosa yugal o del suelo de la boca que son de recubrimiento. En las papilas filiformes del dorso de la lengua es normal que existan proyecciones hiperqueratósicas y en las papilas fungiformes de la parte posterior de la lengua es habitual que exista desorden del epitelio alrededor de los botones gustativos.

**Figura 2.** Cambios en la organización y citológicos en la DEO (a medio y alto aumento): A) Pérdida de la estratificación y la polarización, con imágenes de extensión intraglandular. B) Displasia no queratinizante «basal-like» con pleomorfismo severo, mitosis en capas altas y célulass disqueratóticas, así como pérdida de la estratificación y la polarización. C) Pleomorfismo y anisocariosis, células disqueratóticas y pérdida de la estratificación y la polarización. D) Displasia no queratinizante «con maduración» focal, hiperplasia de basales, pérdida de la estratificación, anisocariosis y pleomorfismo. Casos propios Hospital Clínic, Barcelona




## PATRONES DE DISPLASIA

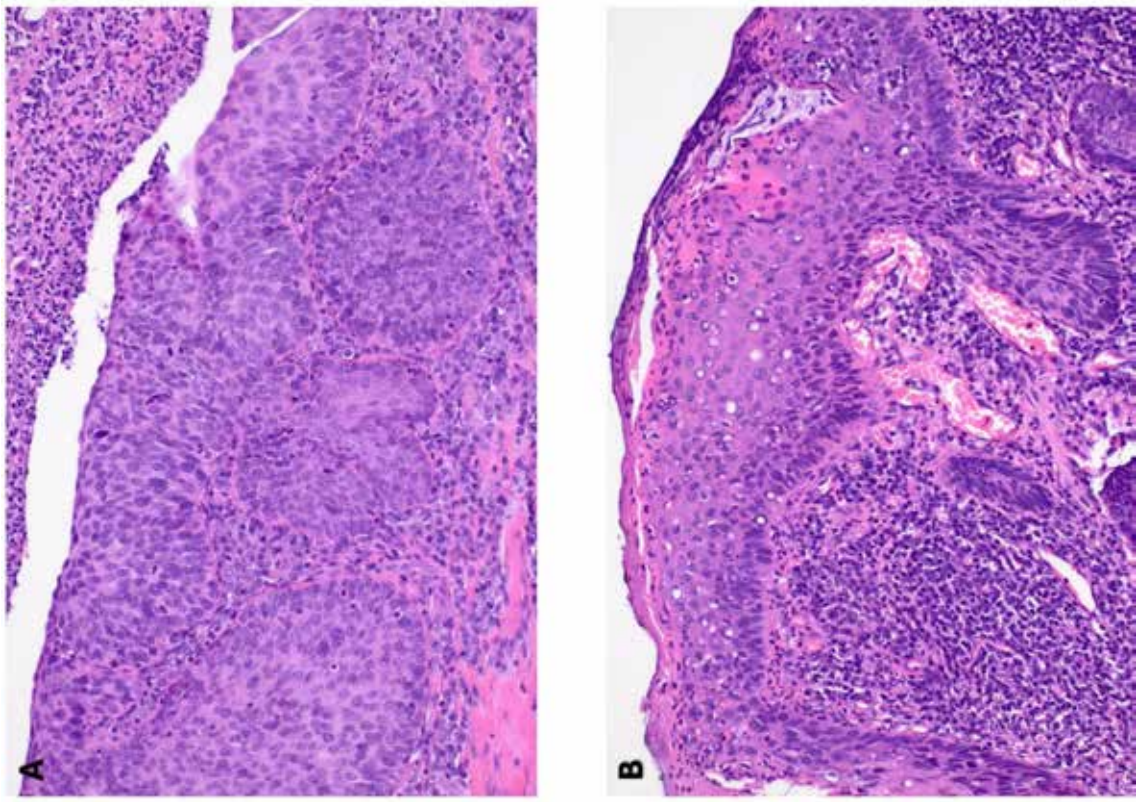
### Displasia basaloide versus diferenciada

La displasia basaloide[1,2,3] (FIGURA 3) es similar a la encontrada en cérvix y la diferenciada se caracteriza porque es queratinizante y retiene células con queratinización, incluso en displasias severas. A diferencia de la displasia cervical, la mayor parte de las displasias orales que preceden al carcinoma son diferenciadas[5]. Sin embargo, no se consideran dos tipos de displasia, sino dos patrones. Puede encontrarse un patrón basaloide y diferenciado en la misma lesión displásica.

Se ha propuesto una analogía de la displasia oral con la displasia diferenciada de la vulva, pero en la vulva este tipo de displasia no se asocia a HPV y en cavidad oral la asociada a HPV suele ser diferenciada (HPV+ y HPV-). Así como en la vulva se asocia a mayor riesgo de transformación, no hay diferencia en cuanto al riesgo de progresión en cavidad oral en relación a displasia diferenciada o basaloide, si bien en la displasia diferenciada, el tiempo que transcurre hasta la transformación maligna es mayor.

Estos distintos patrones morfológicos pueden reflejar sublocalizaciones: la basaloide es más frecuente en suelo de boca y en el lateral de la lengua, donde la queratinización es menos frecuente.

**Figura 3.** Displasia basaloide. Casos propios, Hospital Clínic, Barcelona




**Displasia de patrón verrucoso**

La displasia con patrón verrucoso[2] conlleva alto riesgo de transformación, si bien se caracteriza por poseer poca atipia celular.

La arquitectura verrucosa es rara en otras lesiones orales no displásicas.

La displasia verrucosa (FIGURA 4) se diferencia del carcinoma verrucoso (FIGURA 5) por presencia en este último de un crecimiento endofítico que crece en frente único («pushing border»). Si sólo muestra un crecimiento exofítico pero alcanza un grosor muy superior al del epitelio normal y hay correlación con la clínica, también se considera carcinoma verrucoso.

Si el crecimiento del epitelio es «en tallos» que crecen más allá de la superficie se considera un patrón de crecimiento papilar. Muchas displasias muestran mezcla de los dos. No existe un consenso claro de cómo gradar este tipo de lesiones, por lo que es necesario una correlación clínico-patológica.

**Figura 4.** Biopsia parcial de lesión en cavidad oral, con cambios de hiperplasia verruciforme atípica. Caso propio, Hospital Clínic, Barcelona

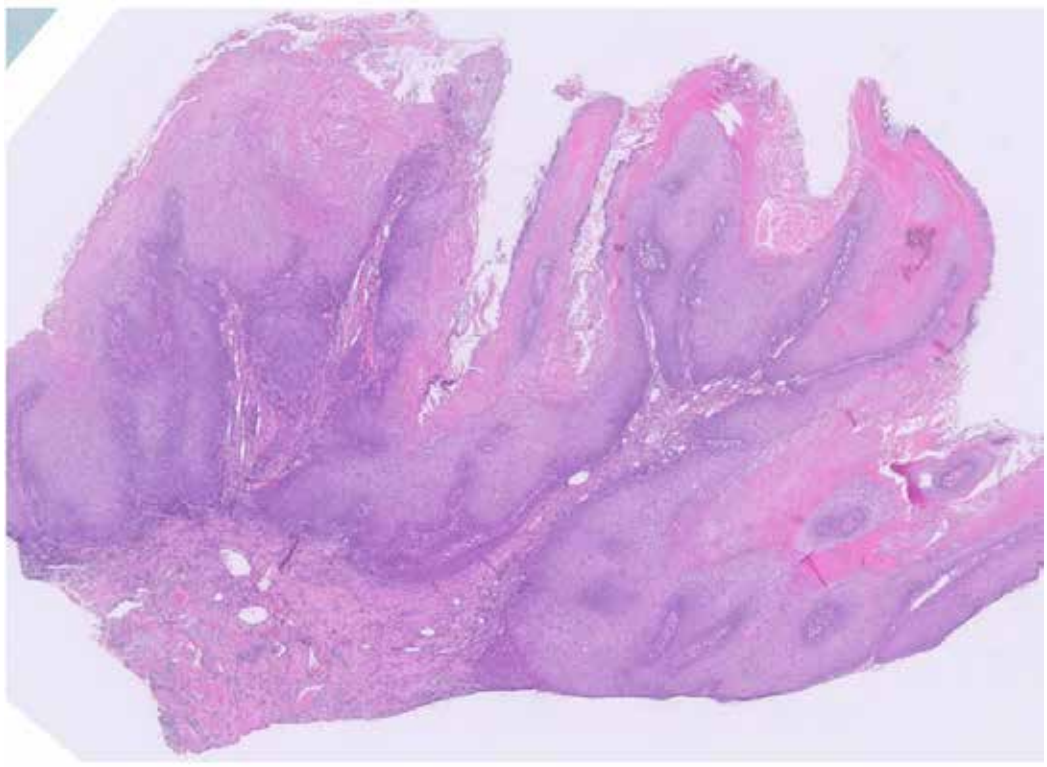
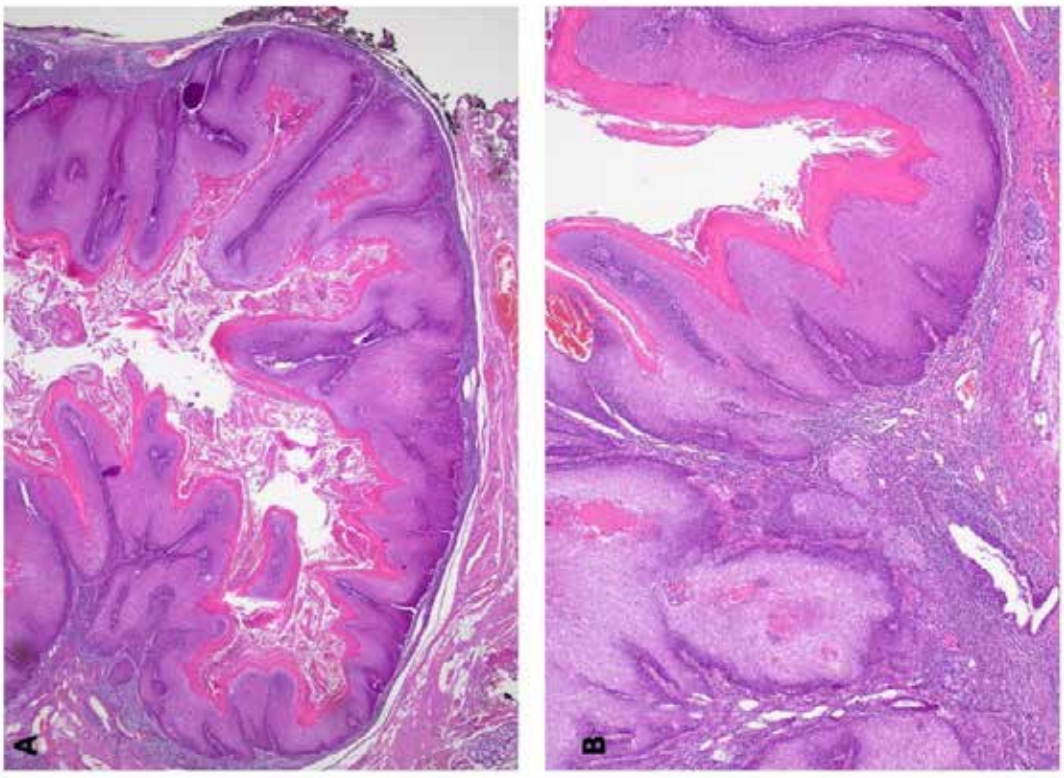


**Figura 5** Lesión verruciforme. A) Lesión verrucosa con un amplio «pushing-border», altamente sospechoso de carcinoma verrucoso. B) Detalle del mismo caso, con zona de transición a carcinoma escamoso de patrón infiltrante (izquierda). Caso propio, Hospital Clínic, Barcelona



**Leucoplasia verrucosa proliferativa LVP**

La LVP[12] se considera un subtipo de clínicopatológico de leucoplasia oral que es multifocal, persistente y progresiva, con alto riesgo de transformación (50 %) en múltiples carcinomas primarios.

Ya que no tiene criterios histopatológicos bien definidos, resulta imprescindible para su diagnóstico la correlación clínica: se presenta en la mucosa del paladar o gingival y en mujeres mayores sin asociación con factores de riesgo, a diferencia de displasia verrucosa y papilar.

Las lesiones iniciales muestran una queratosis con superficie plana sin arquitectura verrucosa ni atipia citológica. Posteriormente adquieren arquitectura verrucosa sin atipia. Es característica la inflamación liquenoide, por lo que pueden ser confundidas con líquen plano.

Con el tiempo se produce un crecimiento desproporcionado del epitelio, tanto endofítico como exofítico, con presencia de crestas redondeadas que pueden fusionarse.

Se han propuesto tres categorías histológicas de lesiones en LVP[12], que se tratan de un espectro dentro de la misma entidad.:

- Lesión orto(para)hiperqueratósica corrugada, no reactiva: Se caracteriza por una ortoqueratosis de más de la mitad del espesor del epitelio normal adyacente, con crestas de epitelio tipo corrugado o tipo «onda», alternancia de orto y paraqueratosis, pérdida o aplanamiento de las crestas papilares, con nula o escasa displasia.
- Proliferación epitelial hiperqueratósica «bulky», no reactiva: Proliferación epitelial que supone la mayoría del espesor de la lesión, con hiperorto(para)queratosis minoritaria, con crestas muy bulbosas, ocasionalmente confluentes.
- Lesión sospechosa o carcinoma escamoso.

**Displasia asociada a HPV**

Existe cierta heterogeneidad en los estudios de prevalencia de HPV en lesiones displásicas por los falsos positivos que puede dar la PCR de ADN de HPV como técnica de detección (determina la presencia biológica del virus; no necesariamente implica actividad biológica). Utilizando primers consenso[2], la tasa de prevalencia del HPV en las displasias orales es del 17 %, siendo menor por técnicas hibridación in situ de ARN. El serotipo más frecuentemente detectado es HPV 16 (70 % de casos).

Por tanto, la displasia asociada a HPV (FIGURA 6) es una lesión poco frecuente. Se presenta fundamentalmente en suelo de boca o lengua. Puede ser solitaria o múltiple.

Pese a lo que inicialmente se pensó, sólo en una minoría de casos en los que se presenta, los pacientes son inmunodeprimidos. Además, el riesgo de TM de la displasia asociada a HPV es menor que en casos de displasia severa convencional.

Los rasgos histológicos que pueden aparecer en la displasia oral asociada a VPH son los siguientes[1,2]:

- Afectación de al menos la mitad del grosor del epitelio
- Sustitución de prácticamente todo el grosor del epitelio por células de morfología basalioide
- Pérdida de delimitación entre capa basal y estratos más maduros del epitelio
- Acantosis
- Aumento de mitosis, a menudo suprabasales y en todo el espesor del epitelio
- Presencia de células salpicadas marcadamente atípicas y/o en apoptosis o cariorexis.
- Orientación vertical de la capa basal e intermedia
- Presencia de una capa basal bien definida, con células cuboideas con poca atipia
- Hiperqueratosis, paraqueratosis
- Cambio coilocítico en capas superficiales

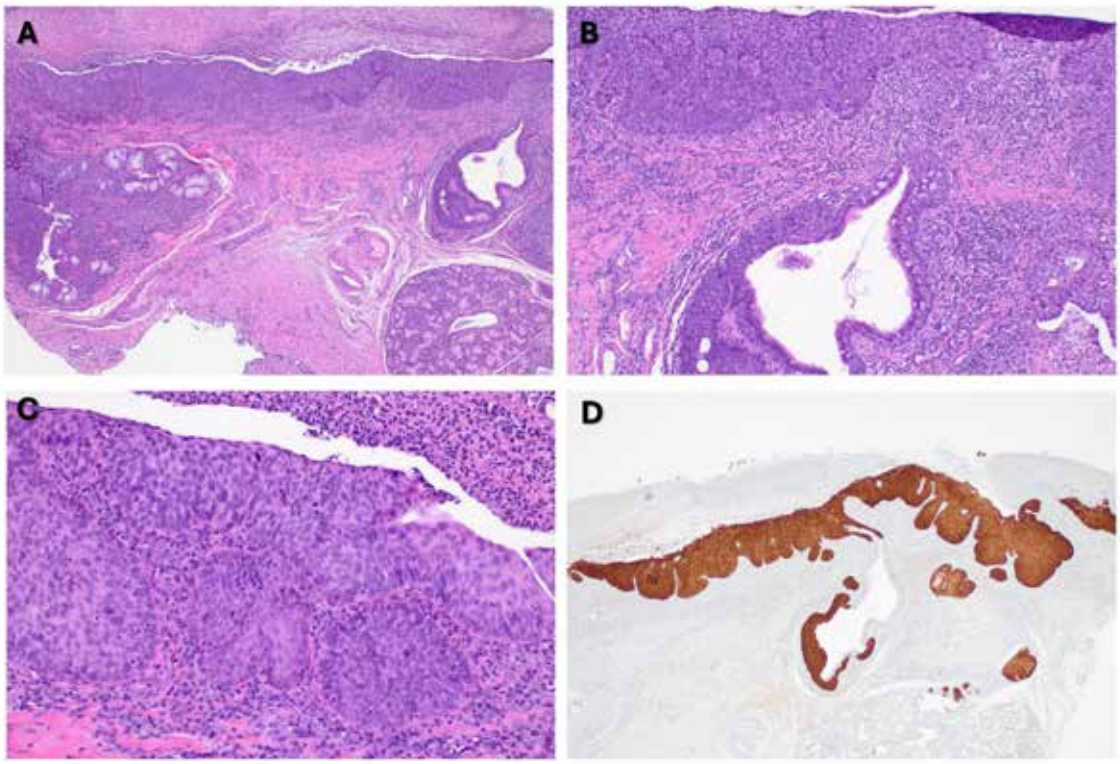
- Positividad inmunohistoquímica intensa para p16 (> 70 % de las células), muy bien demarcada del resto de la mucosa
- Positividad para HPV detectada en técnicas de PCR o hibridación in situ.

Lo más característico es la presencia de células en cariorrexis, cuerpos apoptóticos, y mitosis en todo el espesor del epitelio.

Para un diagnóstico de displasia asociada a HPV, se debe realizar la tinción inmunohistoquímica de p16 y ante su positividad, confirmar la presencia de VPH por técnicas moleculares (PCR, hibridación in situ), siendo más recomendable la hibridación in situ, ya que las displasias no asociadas a HPV pueden tener desregulación de p16 y estar sobreexpresado.

En la displasia asociada a HPV no se aconseja aplicar los grados de displasia oral convencional. Se recomienda utilizar el término «displasia asociada a HPV».

**Figura 6.** DEO relacionada con HPV. A) Lesión en suelo de boca anterior con cambios de displasia basaloide de alto grado. B) Detalle de los focos de invasión glandular de la DEO. C) Detalle citológico de la displasia basaloide. D) p16 positiva. Casos propios Hospital Clínic, Barcelona.




## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE LA DISPLASIA

### Líquen plano y lesiones liquenoides orales

El líquen plano oral es una lesión bilateral y simétrica, reticulada, en mucosa de boca, encía y lengua. Clínicamente es indistinguible de otras lesiones liquenoides secundarias a lupus eritematoso sistémico, hipersensibilidad a medicamentos, sustancias químicas diversas (incluyendo metales de amalgama dentaria), EICH y otras condiciones autoinmunes[1,2,3]. También puede verse en displasia epitelial oral (11-39 % casos), sobre todo en leucoplasia verrucosa proliferativa y en la displasia diferenciada.

La reacción liquenoide es una respuesta inmune T contra queratinocitos. Consiste en un infiltrado linfohistiocítico en banda, infiltración epitelial por linfocitos y destrucción apoptótica de células basales y suprabasales con vacuolización de la capa basal. Es típica la formación de cuerpos coloides y de crestas con morfología en dientes de sierra. Puede haber un aumento de queratinización, acantosis, atrofia y queratinización prematura. Estas últimas alteraciones condicionan el aspecto clínico del liquen plano, que puede ser erosivo, reticular o hipertrófico.

Para un diagnóstico diferencial entre líquen plano y displasia liquenoide es de ayuda encontrar en ésta última un infiltrado mixto con células plasmáticas, que sea menos marcado a nivel profundo y una capa basal relativamente intacta pese a la infiltración linfocítica. También apoya la presencia de arquitectura verrucosa o papilomatosa, la hiperplasia de la capa basal (porque en el líquen plano se destruye) y una atipia citológica evidente.

No obstante, en ocasiones no es fácil realizar un diagnóstico diferencial y resulta necesaria una correlación clínica, así como realización de biopsias secuenciales. Si no está clara la clínica y la histología es compatible, se recomienda realizar el diagnóstico de «mucositis liquenoide compatible con liquen plano en un contexto clínico apropiado»[1]. Si la clínica no es de líquen plano, se recomienda buscar rasgos de displasia.

**Queratosis reactiva por roce o irritación**

Se trata de una lesión más frecuente que la leucoplasia1. Se produce con más frecuencia en la mucosa no queratinizada de lengua, labio, retromolar y alveolar.

Existen varios tipos:

- queratosis crónica por roce/mordedura: Se observa paraqueratosis, a veces fisuras rodeadas de bacterias, acantosis con edema de queratinocitos y crestas de morfología cónica. La inflamación es mínima a no ser que se haya ulcerado.
- queratosis benigna de crestas alveolares (liquen simple crónico oral): Se observa hiperqueratosis con hipergranulosis en forma de cuña y acantosis con crestas cónicas. Puede haber paraqueratosis si ha habido trauma o ulceración.
- lesiones reactivas no específicas: Muestran hiperqueratosis o paraqueratosis, acantosis e inflamación crónica. No suelen ser atróficas.

**Fibrosis submucosa**

Lesión oral potencialmente maligna relacionada con el consumo de nuez de Areca, con un riesgo de transformación maligna de alrededor del 10 %. Clínicamente se caracteriza por la aparición de placas y bandas fibrosas en la mucosa oral, con limitación de la apertura bucal, sensación de quemazón y depapilación lingual. En fases iniciales puede verse hiperplasia epitelial, aunque progresa a atrofia epitelial con pérdida de las crestas. En la submucosa se observa una fibrosis hialinizada densa con degeneración de las fibras musculares[1,2].

**Lesiones no concluyentes de displasia**

Consisten en lesiones atróficas o exageradamente acantósicas con hiperqueratosis/paraqueratosis. Alternan con mucosa sana a modo de «saltos». No suelen tener atipia citológica o si la tienen es leve[1].

Se ha sugerido denominarlas «queratosis probablemente no reactiva» ya que informa al clínico de que es sospechosa de displasia muy inicial.

**Displasia en infección por cándida**

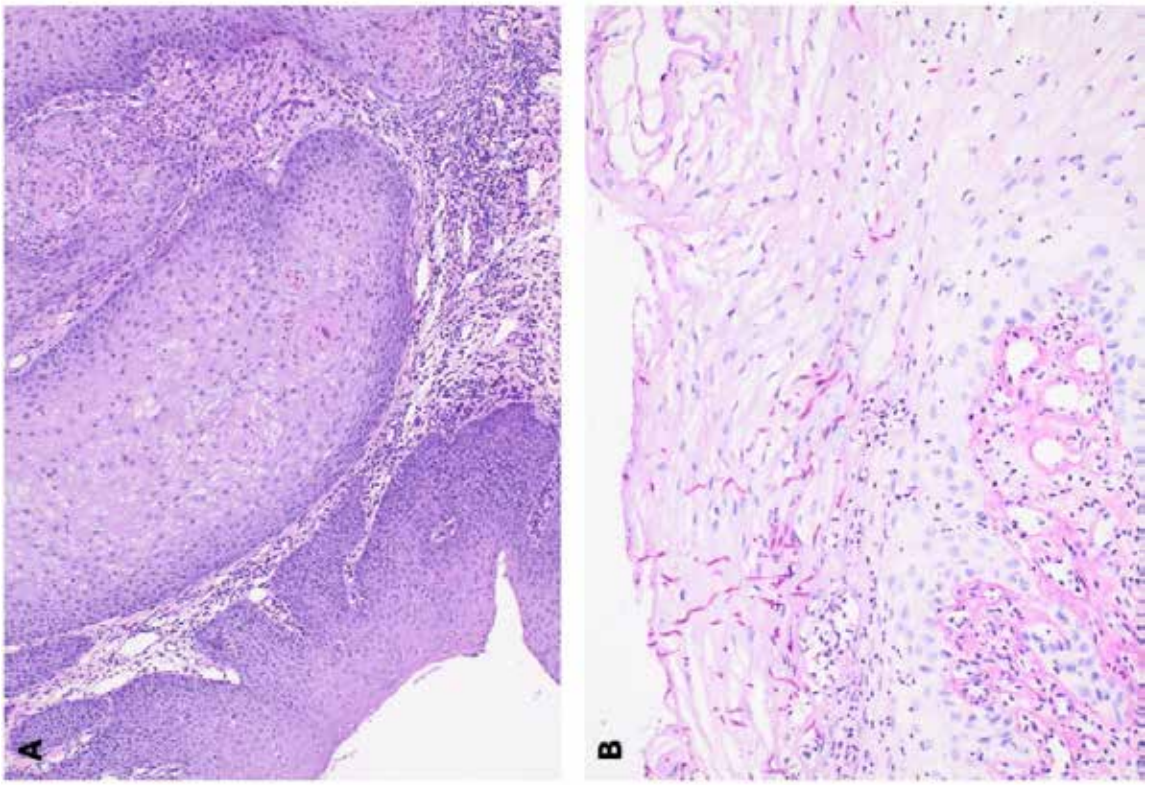
La infección por cándida puede promover cambios displásicos en mucosa oral y los cambios displásicos a menudo se asocian con infección por cándida por la inmunosupresión asociada a displasia[1,2] (FIGURA 7). Estas dos situaciones son difíciles de diferenciar.

Los rasgos más característicos de infección por cándida son:

- hiperplasia capa basal
- edema intraepitelial
- infiltración superficial de neutrófilos
- fibrina en lámina propia
- inflamación debajo del epitelio

Ante una biopsia con cambios displásicos e infección por cándida, resulta útil recomendar tratamiento y si desaparece, considerarlo como una candidiasis con atipia epitelial reactiva. Si no desaparece del todo tras 6 semanas de tratamiento se recomienda rebiopsiar.

**Figura 7.** DEO y candidiasis. A) Cambios de atípia moderada, hiperplasia y neutrófilos intraepiteliales. B) Tinción de PAS-diastasa revelando pseudohifas. Caso propio Hospital Clínic, Barcelona.




**UTILIDAD DE LAS TÉCNICAS DE INMUNOHISTOQUÍMICA**

Dadas las limitaciones en la evaluación puramente morfológica de los cambios de DEO, se han propuesto multitud de marcadores para estratificar a los pacientes con mayor riesgo de progresión a carcinoma invasivo. Ejemplos de estos marcadores son CK13, CK17, OCT4, SOX2, KI-67, p53, cadherinas, cateninas, entre otros.

De todos los biomarcadores de riesgo de progresión de la DEO, la tinción de p53[8,9,11] es la que parece tener más evidencia de utilidad y, además, se correlaciona correctamente con el estatus mutacional de p53. Recientemente se ha visto que la expresión de patrones anormales de p53 se observa en un 20-50 % de DEO moderada y en un 50-60 % de DEO severa, mientras que no se observan patrones de tinción anormal en cambios reactivos o hiperplasia. La supervivencia libre de progresión a carcinoma invasivo para los pacientes con patrones de p53 anormal es significativamente menor que en pacientes con p53 «wild-type» (HR 11, CI 95 % 4-30).

Se han propuesto 4 patrones de expresión de p53 «wild-type»[9]: Basal salteado; Basal-parabasal parcheado; Basal negativa/pseudo-nulo y Basal negativa/medio-epitelial. Por otro lado, se han descrito 3 patrones de p53 anormal: sobreexpresión basal/parabasal, sobreexpresión basal/parabasal a difusa, y patrón nulo (FIGURA 8).

Además, algunos autores recomiendan la realización de p16 y p53[8] de manera simultánea para la clasificación de la displasia asociada a e independiente de HPV (FIGURA 8).

**Figura 8.** Patrones de tinción «wild-type de p53 (A-D) y patrones de tinción aberrante (E-G). Novack R et al. Mod Pathol. 2023 Jul;36(7):100153. Open access.

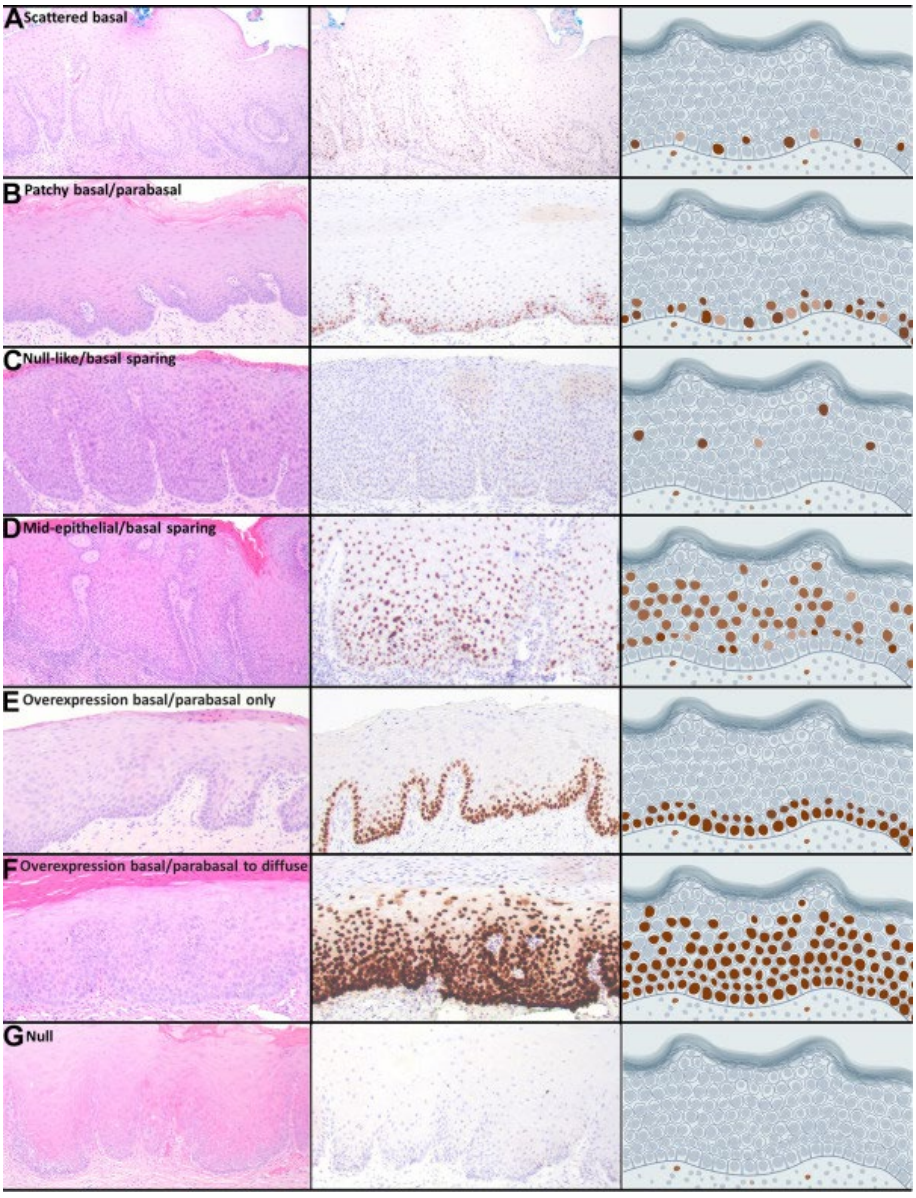
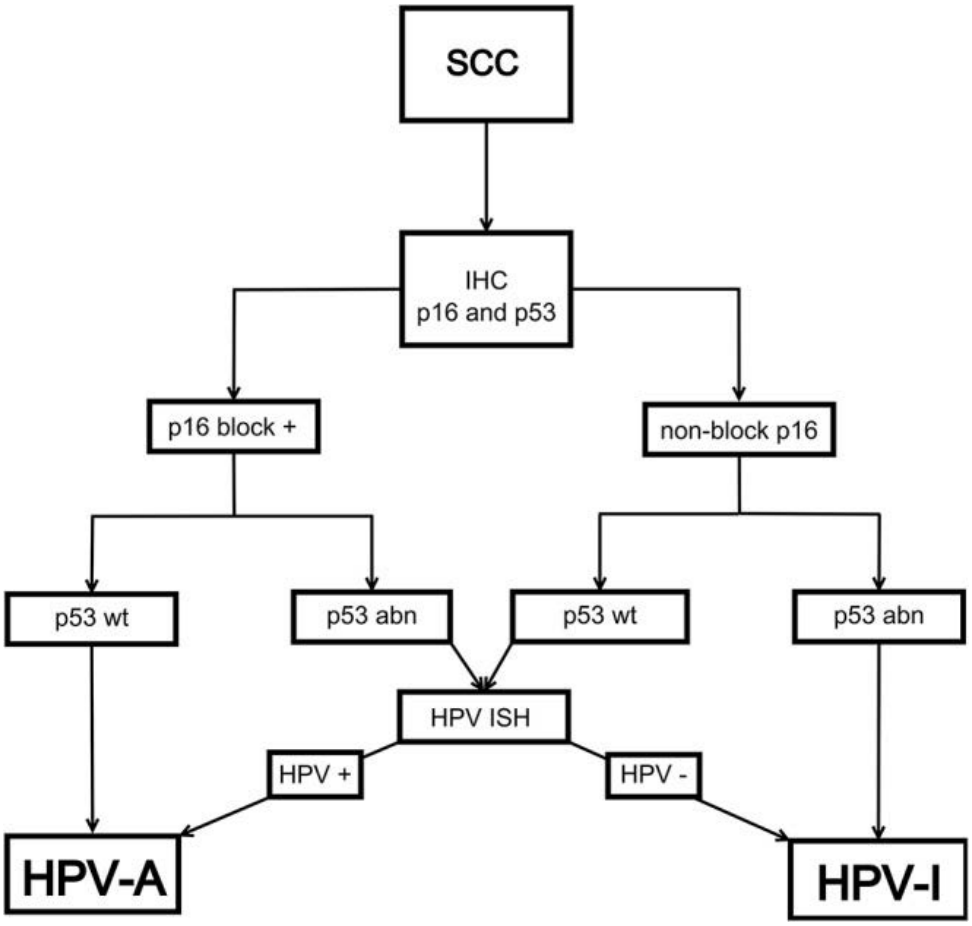


**Figura 9.** Algortimo de clasificación de la displasia HPV asociada e independiente según tinción frente a p53 y p16 simultánea. Pakkanen P et al. Head Neck Pathol. 2024 Aug 7;18(1):7




**GRADOS DE DISPLASIA**

Los grados de displasia facilitan al clínico el riesgo y el tiempo que puede trascurrir hasta la transformación maligna. No son el único indicador de selección de tratamiento.

Todos los grados hasta ahora establecidos son artificiales y subjetivos[1,2,3,4], y no se han descrito hasta ahora ningún conjunto de rasgos específicos que defina diferentes grados. Además, pueden no establecer el riesgo de transformación con exactitud por error de muestreo de la toma de biopsia, ya que las lesiones displásicas son muy heterogéneas a lo largo de la mucosa.

Según la actualización de la WHO 2022[13], la displasia oral se grada en leve, moderada y severa, basado en la presencia de atipia celular afectando un tercio, dos tercios o más de dos tercios del grosor del epitelio, similar al cérvix (FIGURA 8). El carcinoma in situ se considera sinónimo de displasia severa. Sin embargo, la displasia oral raras veces se asocia a HPV, y a diferencia del cérvix, a nivel molecular parece corresponder a un espectro de cambios progresivos.

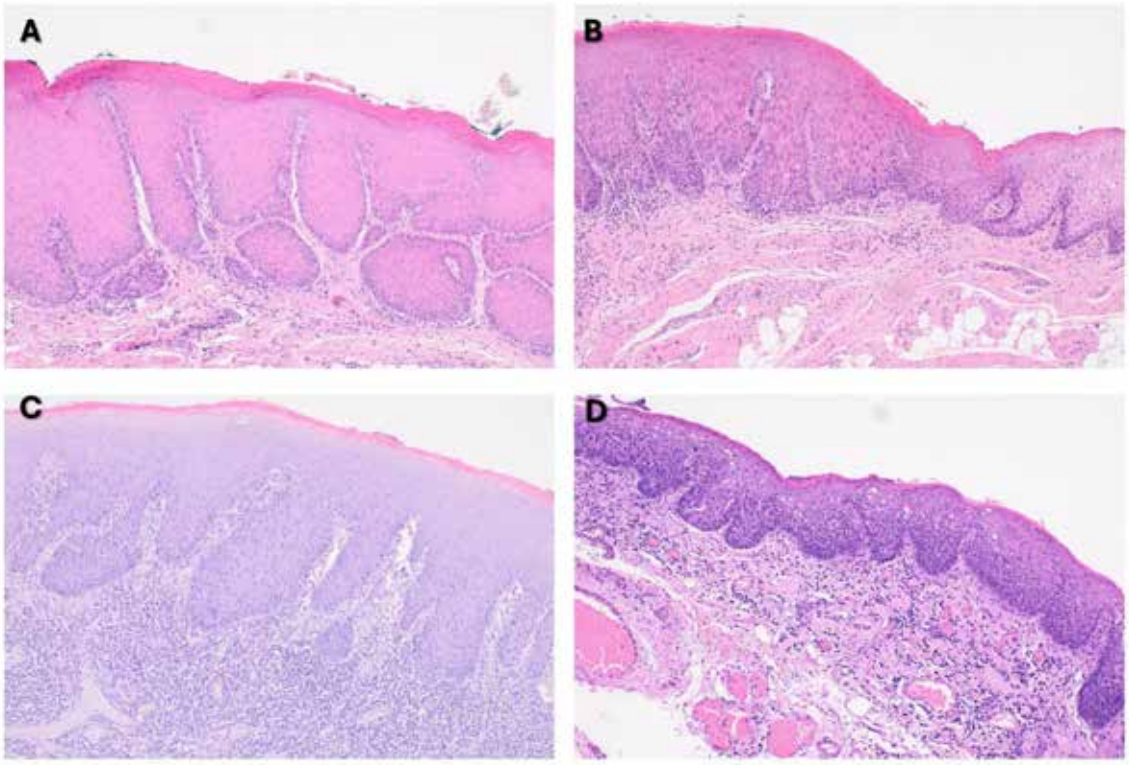
Además, la atipia citológica confinada a un tercio del epitelio puede ser suficiente para diagnóstico de displasia severa, si existen otros rasgos arquitecturales presentes. Es por ello que la propuesta de la WHO es poco reproducible, existiendo gran variabilidad de resultados intraobservador e interobservador. Se ha planteado el uso de gradación binaria de bajo y alto grado, aunque todavía está pendiente de validación.

En conclusión, por su heterogeneidad, no es posible establecer grados de displasia con precisión. Se ha propuesto identificar características que ayuden a subir o bajar los grados.

## OPTIMIZACIÓN DEL GRADO DE DISPLASIA: RECOMENDACIONES

- Resulta fundamental una buena biopsia y debe ser acompañada de orientación clínica. Debe incluir mucosa normal.
- Si existen lesiones múltiples, se deben enviar múltiples muestras.
- Incluir toda la lesión.
- Los técnicos deben estar entrenados para manejo de las biopsias en cuanto a orientación y corte.
- Antes de valorar si existe displasia, determinar si hay carcinoma infiltrante. Es recomendable realizar múltiples cortes.
- Hay que ser consciente del trauma mecánico que se produce por la toma de la biopsia: muestra un aumento de tamaño celular hasta en 0.5mm del margen, por lo que esta zona no se debe incluir en el análisis.
- Se debe hacer un PAS de rutina para buscar cándida en todas las biopsias de mucosa oral sospechosas de displasia. Si ésta está presente se recomienda buscar cambios consistentes con candidiasis.
- Si hay cambios reactivos en el epitelio, no se puede asegurar displasia a no ser que sea de grado moderado o severo.
- Se debe diagnosticar displasia cuando se ha realizado una valoración global de la citología, maduración, estratificación y proliferación. No se recomienda analizar rasgos individuales. Los rasgos más utilizados son: valoración del grosor de compartimento proliferante, atipia nuclear, crecimiento lateral o hacia abajo, maduración, cambio abrupto de queratinización, lesiones saltantes. (FIGURA 10)
- Es frecuente encontrar patrones mixtos de displasia (basaloide/ diferenciado o arquitectural (atrófico, verrucoso o papilar). Si existen varios patrones, dar el de mayor grado.
- Si existe expansión del compartimento basal, gradar en función de grosor. Añadir un grado si existen factores adicionales.
- Si una lesión es diferenciada con atipia mínima y no hay expansión de capa basal, antes de considerarla displasia leve, hay que mirar otros rasgos como la arquitectura, margen lateral marcado, queratinización de células individuales, pérdida de cohesión, crecimiento lateral o hacia abajo.
- Una orientación sería considerar displasia leve cuando las células basales son normales, hay queratinización prematura y un margen lateral demarcado. Si hay atipia celular, se considera moderada y subir a severa si se suman factores adicionales, como morfología verrucosa.
- Si la lesión muestra células en cariorrexis, cuerpos apoptóticos, y mitosis en todo el espesor del epitelio y se localiza en suelo de boca o en lengua, se recomienda realización de estudio inmunohistoquímico de p16 para despistaje de displasia asociada a HPV y ante su positividad confirmar la presencia de VPH por técnicas moleculares.
- Ante un diagnóstico (clínico e histológico) de LVP, se recomienda asignar a la lesión la categoría histológica correspondiente.
- Ante un caso dudoso de displasia, un estudio inmunohistoquímico de p53 que revele un patrón de expresión aberrante, puede ser una herramienta de apoyo, sobre todo en la displasia severa.
- Informar de displasia de bajo grado en otras zonas/márgenes.
- Se recomienda valoración consensuada de la displasia entre dos patólogos.
- Se recomienda, para ir adquiriendo experiencia, crear una base de datos de displasias diagnosticadas y su evolución.

**Figura 10.** Ejemplos de grados de DEO. A) Displasia de bajo grado. B) Displasia de alto grado (Moderada). C) Displasia de alto grado (Moderada). D) Displasia de alto grado (Severa). Casos propios Hospital Clínic, Barcelona.




**INTERPRETACIÓN CLÍNICA DE LA DISPLASIA[1,2]**

- Si la displasia es leve: tratamiento conservador de vigilancia.
- Si la displasia es moderada o severa: cirugía, láser o quimioterapia tópica.
- En la displasia asociada a VPH no hay un protocolo de tratamiento específico.
- No obstante, el tratamiento definitivo de la displasia depende de su accesibilidad, probabilidad de extensión, morbilidad y otros datos clínicos del paciente.

**Bibliografía**

1. Odell E, Kujan O, Warnakulasuriya S, Sloan P. Oral epithelial dysplasia: Recognition, grading and clinical significance. Oral Dis. 2021 Nov;27(8):1947-1976.

2. Ranganathan K, Kavitha L. Oral epithelial dysplasia: Classifications and clinical relevance in risk assessment of oral potentially malignant disorders. J Oral Maxillofac Pathol. 2019 Jan-Apr;23(1):19-27.

3. Warnakulasuriya S, Kujan O, Aguirre-Urizar JM, Bagan JV, González-Moles MÁ, Kerr AR, Lodi G, Mello FW, Monteiro L, Ogden GR, Sloan P, Johnson NW. Oral potentially malignant disorders: A consensus report from an international seminar on nomenclature and classification, convened by the WHO Collaborating Centre for Oral Cancer. Oral Dis. 2021 Nov;27(8):1862-1880

4. de Freitas Silva BS, Batista DCR, de Souza Roriz CF, Silva LR, Normando AGC, Dos Santos Silva AR, Silva MAG, Yamamoto-Silva FP. Binary and WHO displasia grading systems for the

prediction of malignant transformation of oral leukoplakia and erythroplakia: a systematic review and meta-analysis. Clin Oral Investig. 2021 Jul;25(7):4329-4340.

5. Wils LJ, Poell JB, Evren I, Koopman MS, Brouns EREA, de Visscher JGAM, Brakenhoff RH, Bloemena E. Incorporation of differentiated dysplasia improves prediction of oral leukoplakia at increased risk of malignant progression. Mod Pathol. 2020 Jun;33(6):1033-1040.

6. Brouns ER, Evren I, Wils LJ, Poell JB, Brakenhoff RH, Bloemena E, de Visscher JGAM. Oral leukoplakia classification and staging system with incorporation of differentiated dysplasia. Oral Dis. 2023 Oct;29(7):2667-2676.

7. Woo SB. Oral Epithelial Dysplasia and Premalignancy. Head Neck Pathol. 2019 Sep;13(3):423-439.

8. P Pakkanen P, Silvoniemi A, Aro K, Bäck L, Irjala H, Aaltonen LM, Hagström J, Haglund C, Laine J, Minn H, Huvila J. Simultaneous p53 and p16 Immunostaining for Molecular Subclassification of Head and Neck Squamous Cell Carcinomas. Head Neck Pathol. 2024 Aug 7;18(1):73.

9. Novack R, Zhang L, Hoang LN, Kadhim M, Ng TL, Poh CF, Kevin Ko YC. Abnormal p53 Immunohistochemical Patterns Shed Light on the Aggressiveness of Oral Epithelial Dysplasia. Mod Pathol. 2023 Jul;36(7):100153.

10. Ko YCK, Liu KYP, Chen E, Zhu SY, Poh CF. p53 Abnormal Oral Epithelial Dysplasias are Associated With High Risks of Progression and Local Recurrence-A Retrospective Study in a Longitudinal Cohort. Mod Pathol. 2024 Sep 10;37(12):100613.

11. Sawada K, Momose S, Kawano R, Kohda M, Irié T, Mishima K, Kaneko T, Horie N, Okazaki Y, Higashi M, Tamaru JI. Immunohistochemical staining patterns of p53 predict the mutational status of *TP53* in oral epithelial dysplasia. Mod Pathol. 2022 Feb;35(2):177-185.

12. Thompson LDR, Fitzpatrick SG, Müller S, Eisenberg E, Upadhyaya JD, Lingen MW, Vigneswaran N, Woo SB, Bhattacharyya I, Bilodeau EA, Carlos R, Islam MN, Leon ME, Lewis JS Jr, Magliocca KR, Mani H, Mehrad M, Purgina B, Richardson M, Wenig BM, Cohen DM. Proliferative Verrucous Leukoplakia: An Expert Consensus Guideline for Standardized Assessment and Reporting. Head Neck Pathol. 2021 Jun;15(2):572-587. doi: 10.1007/s12105-020-01262-9.

13. Head and Neck Tumours Editorial Board (5th ed.) WHO Classification of Tumours. IARC ISBN-13978-92-832-4514-8

14. Hankinson P, Mahmood H, Walsh H, Speight PM, Khurram SA. Demystifying oral epithelial dysplasia: a histological guide. Pathology. 2024 Feb;56(1):11-23.

# Recomendaciones del Grupo de Trabajo de Patología Digital de la SEAP

# Encuesta sobre la Patología Digital en España 2024

**Jordi Temprana Salvador[1], Francesc Tresserra Casas[2], Johanna Beatriz Palacios Ball[3], Belén Tristán Martín[4], Joan Carles Ferreres Piñas[5]**

1. *Hospital Universitario Vall Hebron. Barcelona*
2. *Hospital Universitario Dexeus. Barcelona*
3. *Hospital Universitario de Burgos. Burgos*
4. *Complejo Asistencial de Ávila. Ávila*
5. *Hospital Universitario Parc Taulí. Sabadell. Barcelona*

## INTRODUCCIÓN

La transformación digital en el ámbito de la anatomía patológica en España supone un avance esencial para la modernización de los servicios sanitarios y ya es una realidad en numerosos centros, mientras que para muchos sigue siendo una meta próxima. Este capítulo se centra en ofrecer un panorama actualizado y completo sobre el estado de la digitalización en la patología española, sustentado en los resultados de una encuesta realizada a los miembros de la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP).

El estudio analiza, de forma integral, la implementación de sistemas digitales en los centros hospitalarios a nivel nacional, abarcando aspectos tanto técnicos como operativos. Destaca la importancia de evaluar los planes de digitalización que impulsan la transformación, así como el grado de inversión y adopción en cada comunidad autónoma, lo que permite identificar variaciones regionales en el ritmo y la calidad del proceso digital. Además, la investigación se adentra en la dimensión del personal y la infraestructura de cada centro, resaltando el impacto organizativo y la capacidad instalada para enfrentar los retos que supone incorporar nuevas tecnologías.

Entre los elementos fundamentales recogidos en la encuesta se encuentran la integración de tecnologías avanzadas, como la inteligencia artificial, que potencia la interpretación de datos y facilita diagnósticos más precisos; la implementación de sistemas de fotografía macroscópica digital y escáneres de última generación, esenciales para la captura de imágenes con alta calidad; y la relevancia de contar con equipos adecuados, que incluyen desde dispositivos ergonómicos y monitores de alta resolución hasta software especializado y múltiples estaciones de trabajo para optimizar la gestión digital.

El informe también contempla otros aspectos críticos, como el almacenamiento seguro y eficiente de la información, la trazabilidad de las muestras y la utilización de dispositivos de identificación para garantizar la integridad del proceso. Asimismo, se valora la influencia del teletrabajo en la reorganización de los flujos laborales y la flexibilidad asistencial, especialmente en circunstancias de alta demanda. La dimensión docente se destaca como un motor clave para la formación continua de los profesionales, facilitando la integración y el uso adecuado de estas herramientas tecnológicas.

**DISEÑO DE LA ENCUESTA**

La encuesta se envió a todos los socios de la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP). Se envió en formato Google Forms el día 6 de noviembre y se cerró el día 17 de diciembre de 2024.

La encuesta constaba de 70 preguntas además de datos de filiación del participante:

- Comunidad autónoma - Provincia
- Ciudad
- Centro / Hospital
- Número de patólogos (facultativos/adjuntos) (Equivalente a tiempo completo)
- Número de residentes
- Número de citotécnicos
- Número de técnicos
- Número de camas del hospital
- ¿Dispone el centro de docencia pregrado/universitaria?
- ¿Existe un plan para digitalizar la AP del centro?
- ¿En qué fase se encuentra?
- ¿Se trata de un plan de digitalización para un solo centro o para un proyecto en red?
- Si se trata de una red de hospitales, por favor describidla brevemente (número de servicios de AP de la red, si es a nivel de comunidad autónoma, empresa privada, etc):
- Qué alcance tiene el plan de digitalización según tipo de muestra (Digitalización completa) (Se pueden marcar varias opciones)
- Qué alcance tiene el plan de digitalización según tipo de técnica (Digitalización completa) (Se pueden marcar varias opciones)
- Describir en texto libre el estado de la digitalización en caso de requerirse:
- Número de portaobjetos en total anuales de: Hematoxilina-Eosina (año 2023)
- Número de portaobjetos en total anuales de: Citología convencional (año 2023)
- Número de portaobjetos en total anuales de: Citología líquida (año 2023)
- Número de portaobjetos en total anuales de: Inmunohistoquímica (año 2023)
- Número de portaobjetos en total anuales de: Histoquímica (año 2023)
- Número de portaobjetos en total anuales de: CISH / SISH (año 2023)
- Número de portaobjetos en total anuales de: Fluorescencia directa IFD (año 2023)
- Número de portaobjetos en total anuales de: FISH (año 2023)
- Número de portaobjetos en total anuales de: Megabloques / Cristales dobles (año 2023)
- Porcentaje de digitalización en global según número de portaobjetos totales del centro
- Porcentaje de patólogos que utilizan patología digital
- Si no se realiza digitalización completa y se realiza digitalización parcial o de casos puntuales, en qué casos o subespecialidades se digitaliza:
- ¿Se dispone de sistema de fotografía macroscópica digital?
- ¿Cuántos dispositivos?
- ¿Qué modelos/sistemas?
- ¿El sistema de fotografía macroscópica está integrado con el LIS/SIAP?
- ¿El sistema de fotografía macroscópica está integrado con el Visor de imágenes de patología digital / Sistema de Gestión de Imágen?
- ¿De cuántos escáneres se dispone en el centro?
- ¿De qué modelos de escáner se dispone en el centro?
- ¿Cuál es el uso principal de los escáneres del centro?
- ¿Cuánto tiempo se guardan las imágenes escaneadas antes de ser borradas del centro? (describir si existen diferentes tipos de lógica) (Casos positivos / interesantes / todos / según SNOMED / según tipos de muestra / etc.)
- ¿De cuántos TB de almacenamiento se dispone en el centro?

- ¿En qué formato se guardan las imágenes escaneadas en el centro? (Se pueden marcar varias opciones)
- ¿Se dispone de almacenamiento a largo plazo, fuera del centro?
- Tamaño (en pulgadas) del monitor diagnóstico
- Resolución (en píxeles) del monitor diagnóstico
- Modelo del monitor diagnóstico
- Modelo del monitor auxiliar (no diagnóstico, si se dispone de segundo monitor)
- ¿Se dispone de monitores para docencia? (ejemplo, monitores grandes de >50 pulgadas) Por favor, describir tamaño, modelo, número de pantallas.
- ¿Se dispone de dispositivo ergonómico alternativo al ratón para navegar por la imagen?
- ¿De qué dispositivo ergonómico alternativo en el ratón para navegar por la imagen se dispone?
- Número de estaciones de trabajo de calidad diagnóstica disponibles en el centro
- Número de estaciones de trabajo de calidad diagnóstica necesarias en el centro
- ¿De qué software de visualización de imagen se dispone? (Visor y sistema de gestión de la imagen SGI)
- ¿De qué LIS / Sistema Información Anatomía Patológica se dispone?
- ¿El LIS/SIAP dispone de posibilidad de trabajar con imágenes digitalizadas?
- ¿Se encuentra actualmente el LIS/SIAP integrado con el visor de imágenes diagnósticas?
- ¿De qué puntos de trazabilidad se disponen?
- ¿Se dispone de petición electrónica?
- ¿Se dispone algoritmos de Inteligencia Artificial integrados en producción para diagnóstico primario?
- ¿De qué algoritmos se dispone en producción? (Si aplica)
- ¿Se dispone de etiquetadora de portaobjetos con código QR-Bidi-Datamatrix?
- ¿Se dispone de etiquetadora de casetes con código QR-Bidi-Datamatrix?
- ¿Se dispone de montaje automatizado?
- ¿Está implementado un sistema que permita teletrabajar una vez implementada la patología digital? (VPN)
- ¿Se permite realizar teletrabajo una vez implementada la patología digital?
- En caso afirmativo, ¿Con qué frecuencia se permite realizar teletrabajo? (días a la semana)
- Si la patología digital ya se ha implementado, ¿Cuál fue el grado de aceptación inicial?
- Si la patología digital ya se ha implementado, ¿Cuál fue el grado de aceptación tras un tiempo?
- Si la patología digital ya se ha implementado, ¿Cuál es el mayor obstáculo que consideras que ha habido durante la implementación?
- ¿Cuál es el problema inicial que consideras como principal freno de la implementación de patología digital? (Otros - Detallar texto libre, se pueden seleccionar múltiples opciones)
- Si se dispone de patología digital en producción, ¿se ha realizado proceso de validación?:
- Si se dispone de patología digital en producción, ¿qué proceso de validación se ha realizado al implementar?
- Comentarios libres

Respondieron a la encuesta **57 participantes**. Se descartaron 3 por tratarse de respuestas duplicadas.

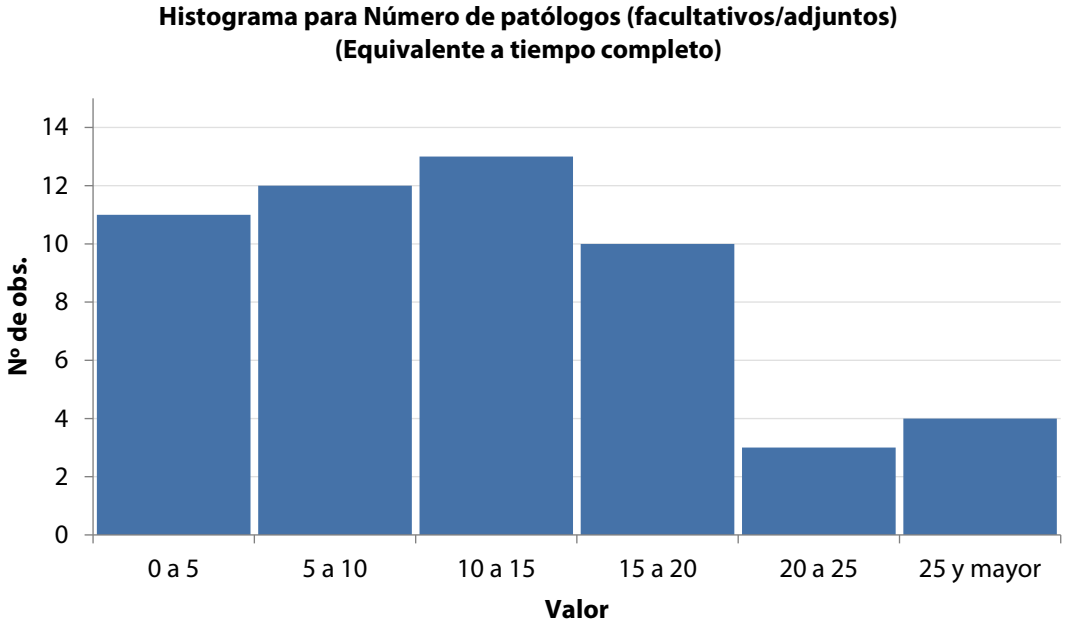
## DISTRIBUCIÓN POR COMUNIDADES AUTÓNOMAS

Por comunidades autónomas Cataluña con 13 participantes, seguida de Andalucía, Comunidad Valenciana y la Comunidad de Madrid con 8 participantes cada una, fueron las que más encuestas contestaron.

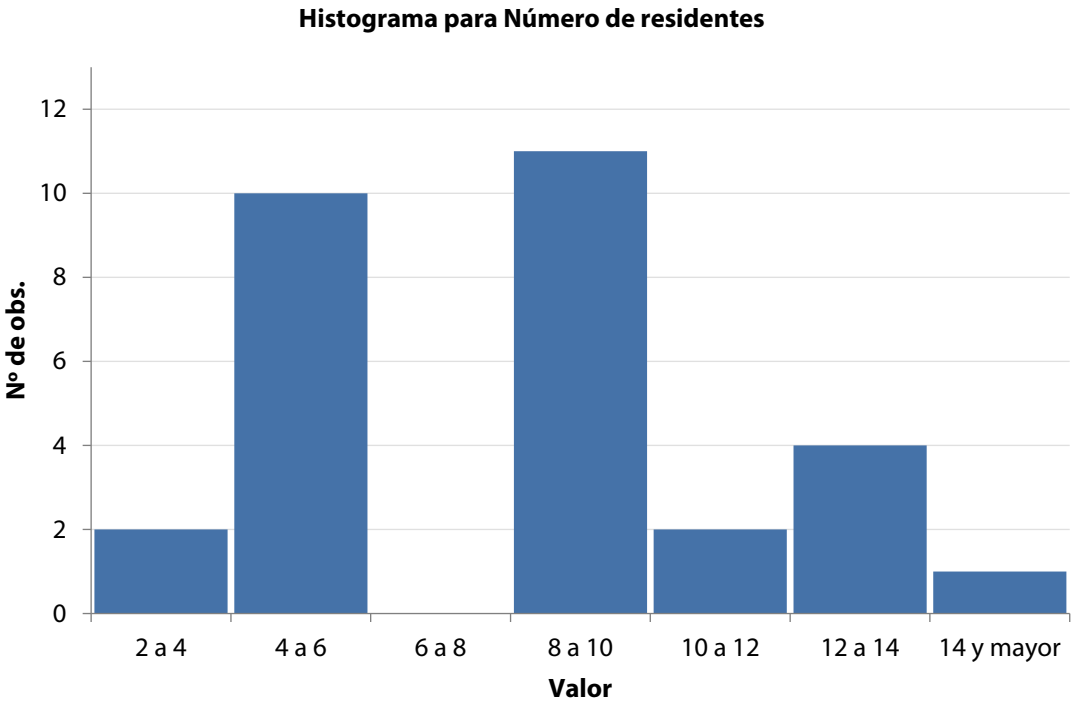
| Distribución de frecuencia de Comunidad Autónoma (N válido: 54) | | |
|---|---|---|
| **Comunidad Autónoma** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| Andalucía | 8 | 15 % |
| Aragón | 1 | 2 % |
| Asturias | 1 | 2 % |
| Canarias | 4 | 7 % |
| Cantabria | 2 | 4 % |
| Castilla la Mancha | 3 | 6 % |
| Castilla y León | 2 | 4 % |
| Cataluña | 13 | 24 % |
| Comunidad de Madrid | 8 | 15 % |
| Comunidad Valenciana | 8 | 15 % |
| Extremadura | 1 | 2 % |
| Navarra | 1 | 2 % |
| Región de Murcia | 2 | 4 % |
| **Total** | **54** | **100 %** |

## PERSONAL Y DIMENSIÓN DEL CENTRO

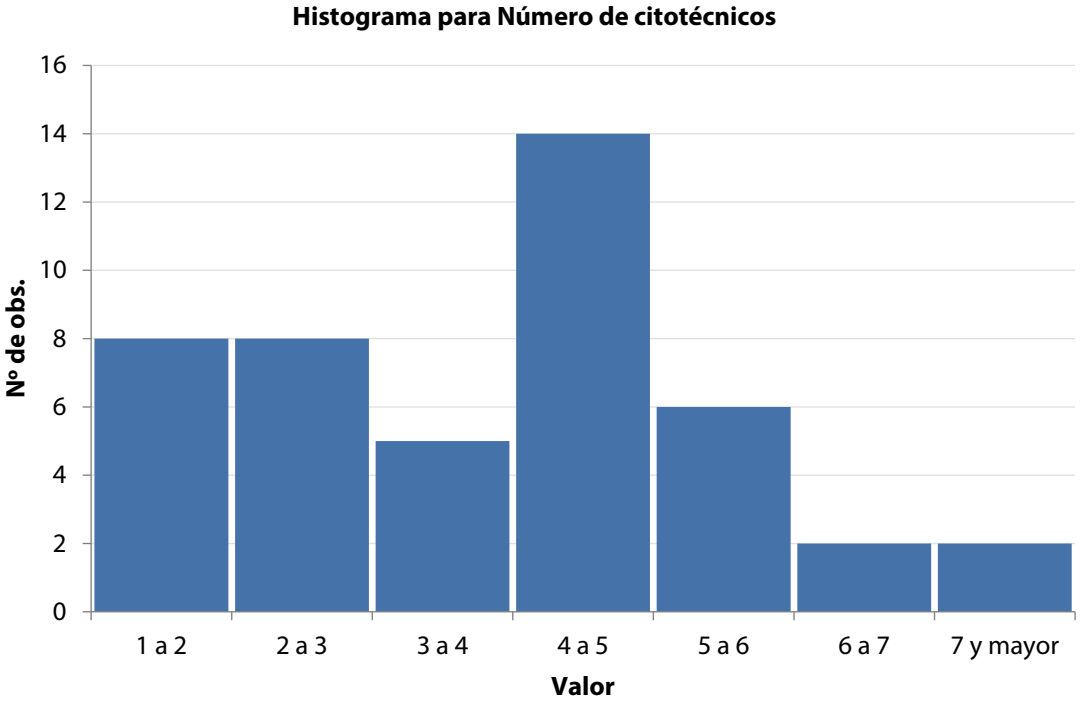
El número de **patólogos** promedio por centro fue de 11.2 ± 7.4 con un rango que oscilaba entre 1 y 28. La mayoría de los centros tenían entre 5 y 15 patólogos.



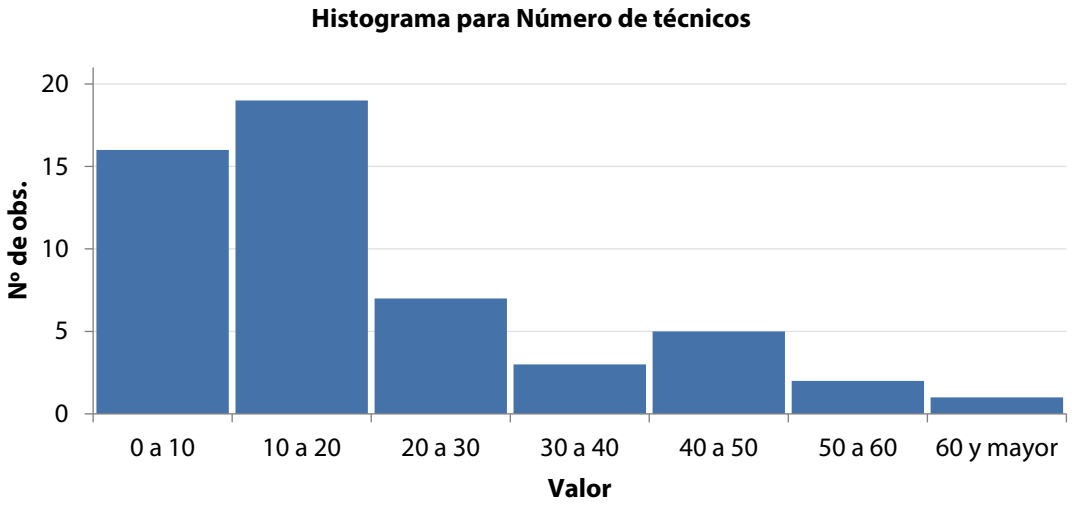
El número de **residentes** promedio por centro fue de 7.3 ± 3.4 con un rango que oscilaba entre 2 y 16 residentes. La mayoría de los centros contaba con entre 4 y 10 residentes.




El número de **citotécnicos** promedio fue de 3.4 ± 1.7 con un rango que oscilaba entre 1 y 8 citotécnicos. La mayoría de los centros tenían entre 4 y 5 citotécnicos.



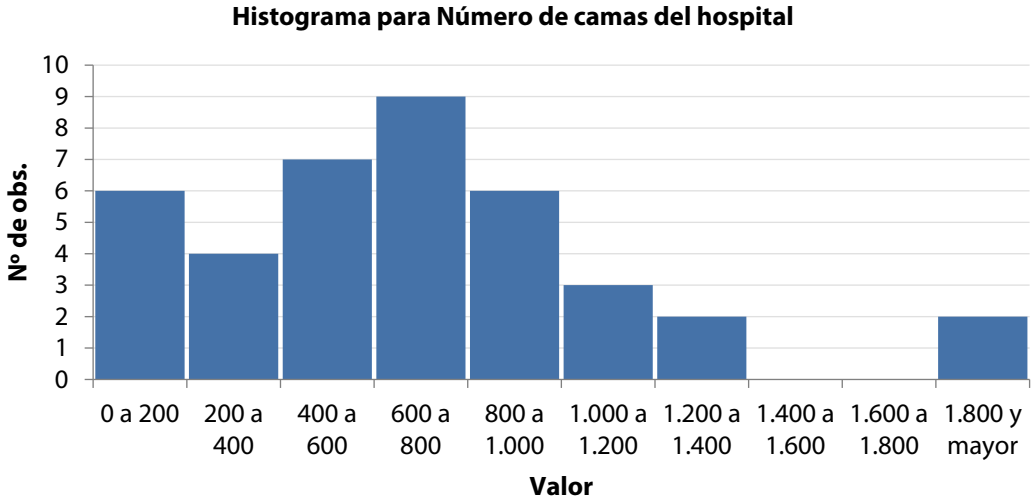
El número de **técnicos** promedio fue de 18.4 ± 15.9 con un rango que oscilaba entre los 2 y los 70 técnicos. La mayoría de los centros tenía 20 técnicos o menos.




La distribución del número de patólogos, residentes, citotécnicos y técnicos según las distintas comunidades autónomas se expresa en la siguiente tabla.

| | Número de Patologos | | | Número de Residentes | | | Número de Citotécnicos | | | Número de técnicos | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Grupos* | *Tamaño muestral* | *Media* | *Desv.Est.* | *Tamaño muestral* | *Media* | *Desv.Est.* | *Tamaño muestral* | *Media* | *Desv.Est.* | *Tamaño muestral* | *Media* | *Desv.Est.* |
| *Andalucía* | 8 | 10 | 9 | 3 | 10 | 2 | 4 | 3 | 2 | 8 | 16 | 18 |
| *Aragón* | 1 | 13 | | 1 | 4 | | 1 | 2 | | 1 | 20 | |
| *Asturias* | 1 | 8 | | 1 | 4 | | 1 | 2 | | 1 | 11 | |
| *Canarias* | 4 | 12 | 7 | 2 | 4 | 0 | 2 | 3 | 3 | 3 | 17 | 14 |
| *Cantabria* | 2 | 11 | 6 | 1 | 12 | | 2 | 3 | 1 | 2 | 17 | 16 |
| *Castilla la Mancha* | 3 | 8 | 6 | 2 | 6 | 4 | 2 | 2 | 1 | 3 | 13 | 11 |
| *Castilla y León* | 2 | 6 | 5 | 1 | 4 | | 2 | 2 | 1 | 2 | 7 | 7 |
| *Cataluña* | 13 | 15 | 8 | 8 | 7 | 3 | 13 | 5 | 2 | 13 | 23 | 17 |
| *Comunidad de Madrid* | 8 | 14 | 7 | 4 | 11 | 5 | 7 | 4 | 1 | 8 | 23 | 18 |
| *Comunidad Valenciana* | 8 | 7 | 4 | 4 | 6 | 3 | 8 | 2 | 2 | 8 | 12 | 5 |
| *Extremadura* | 1 | 6 | | 1 | 8 | | 1 | 3 | | 1 | 11 | |
| *Navarra* | 1 | 26 | | 1 | 8 | | 1 | 5 | | 1 | 70 | |
| *Región de Murcia* | 2 | 9 | 10 | 1 | 8 | | 1 | 5 | | 2 | 12 | 12 |

El número de **camas** promedio de los centros encuestados era de 678.3 ± 447.9 con un rango que oscilaba entre 97 y 2000 camas. La mayoría de los centros tenía entre 400 y 1000 camas.



La distribución del número de camas por centro según las distintas comunidades autónomas se expresa en la siguiente tabla:

| Número de camas | | | |
|---|---|---|---|
| **Grupos** | **Tamaño muestral** | **Media** | **Desv.Est.** |
| **Andalucía** | 5 | 651 | 805 |
| **Asturias** | 1 | 500 | |
| **Canarias** | 3 | 838 | 162 |
| **Cantabria** | 2 | 633 | 520 |
| **Castilla la Mancha** | 2 | 438 | 442 |
| **Castilla y León** | 1 | 600 | |
| **Cataluña** | 12 | 747 | 520 |
| **Comunidad de Madrid** | 6 | 660 | 375 |
| **Comunidad Valenciana** | 5 | 523 | 259 |
| **Navarra** | 1 | 1000 | |
| **Región de Murcia** | 1 | 900 | |

**DOCENCIA**

Un total de 39 (**72 %**) de los 54 centros encuestados disponía de docencia pregrado o universitaria.

**PLAN DE DIGITALIZACIÓN**

En 42 (**77 %**) centros existía un plan para digitalizar el servicio de anatomía patológica.

Andalucía, Canarias, Cataluña, Comunidad de Madrid y Comunidad Valenciana fueron las comunidades que disponían de más centros con plan de digitalización.

| Plan Digitalización | | | |
|---|---|---|---|
| **Grupos** | **Si** | **No** | **% de afirmativo** |
| **Andalucía** | 5 | 3 | 63 % |
| **Aragón** | 1 | 0 | 100 % |
| **Asturias** | 0 | 1 | 0 % |
| **Canarias** | 4 | 0 | 100 % |
| **Cantabria** | 1 | 1 | 50 % |
| **Castilla la Mancha** | 2 | 1 | 67 % |
| **Castilla y León** | 2 | 0 | 100 % |
| **Cataluña** | 12 | 1 | 92 % |
| **Comunidad de Madrid** | 6 | 2 | 75 % |
| **Comunidad Valenciana** | 7 | 1 | 88 % |
| **Extremadura** | 0 | 1 | 0 % |
| **Navarra** | 1 | 0 | 100 % |
| **Región de Murcia** | 1 | 1 | 50 % |

En la mayoría de los centros el plan de digitalización se encontraba en fase **finalización** (19, 46 %), en 4 (10 %) estaba en implementación parcial. En 14 centros no existía plan de digitalización.

| Distribución de frecuencia de ¿En qué fase se encuentra? | | |
|---|---|---|
| **¿En qué fase se encuentra?** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| **Licitación** | 1 | 2 % |
| **Adjudicación** | 2 | 5 % |
| **Implementación parcial** | 4 | 10 % |
| **Redacción de pliegos** | 7 | 17 % |
| **Planificación** | 8 | 20 % |
| **Finalizado** | 19 | 46 % |
| **Total** | **41** | **100 %** |

La fase del plan de digitalización según las distintas comunidades autónomas se refleja en la siguiente tabla.

| | Planificación | | Redacción pliegos | | Licitación | | Adjudicacion | | Implementacion Parcial | | Finalizado | | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Grupos* | N | % | N | % | N | % | N | % | N | % | N | % | |
| *Andalucia* | 0 | 0% | 3 | 60% | 0 | 0% | 1 | 20% | 0 | 0% | 1 | 20% | 5 |
| *Aragon* | 0 | | 0 | | 0 | | 0 | | 0 | | 0 | | 0 |
| *Asturias* | 0 | | 0 | | 0 | | 0 | | 0 | | 0 | | 0 |
| *Canarias* | 3 | 75% | 1 | 25% | 0 | 0% | 0 | 0% | 0 | 0% | 0 | 0% | 4 |
| *Cantabria* | 0 | 0% | 0 | 0% | 0 | 0% | 0 | 0% | 0 | 0% | 1 | 100% | 1 |
| *Castilla la Mancha* | 1 | 50% | 0 | 0% | 0 | 0% | 0 | 0% | 1 | 50% | 0 | 0% | 2 |
| *Castilla y Leon* | 0 | 0% | 0 | 0% | 0 | 0% | 1 | 50% | 1 | 50% | 0 | 0% | 2 |
| *Cataluña* | 0 | 0% | 1 | 8% | 0 | 0% | 0 | 0% | 1 | 8% | 10 | 83% | 12 |
| *Comunidad de Madrid* | 1 | 17% | 0 | 0% | 1 | 17% | 0 | 0% | 1 | 17% | 3 | 50% | 6 |
| *Comunitat Valenciana* | 2 | 29% | 2 | 29% | 0 | 0% | 0 | 0% | 0 | 0% | 3 | 43% | 7 |
| *Extremadura* | 0 | | 0 | | 0 | | 0 | | 0 | | 0 | | 0 |
| *Navarra* | 0 | 0% | 0 | 0% | 0 | 0% | 0 | 0% | 0 | 0% | 1 | 100% | 1 |
| *Region de Murcia* | 1 | 100% | 0 | 0% | 0 | 0% | 0 | 0% | 0 | 0% | 0 | 0% | 1 |

Este plan de digitalización, en 34 (63 %) centros abarcaba a una **red de centros** mientras que en 10 (18 %) implicaba a un solo centro.

| **Distribución de frecuencia de ¿Se trata de un plan de digitalización para un solo centro o para un proyecto en red? (N válido: 54)** | | |
|---|---|---|
| **¿Se trata de un plan de digitalización para un solo centro o para un proyecto en red?** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| No aplica - No hay plan | 10 | 19 % |
| Red de hospitales | 34 | 63 % |
| Un sólo centro | 10 | 19 % |
| **Total** | **54** | **100 %** |

En aquellos centros en los que se trataba de una **red de hospitales**, esta abarcaba:

- 14 centros del SACYL (Sanidad de Castilla y León).
- 8 hospitales del ICS (Instituto Catalán de la Salud).
- 4 centros de la red SERMAS (Servicio Madrileño de Salud).
- 3 centros privados.
- Otros proyectos a nivel regional o autonómico.

**ALCANCE DE LA DIGITALIZACIÓN**

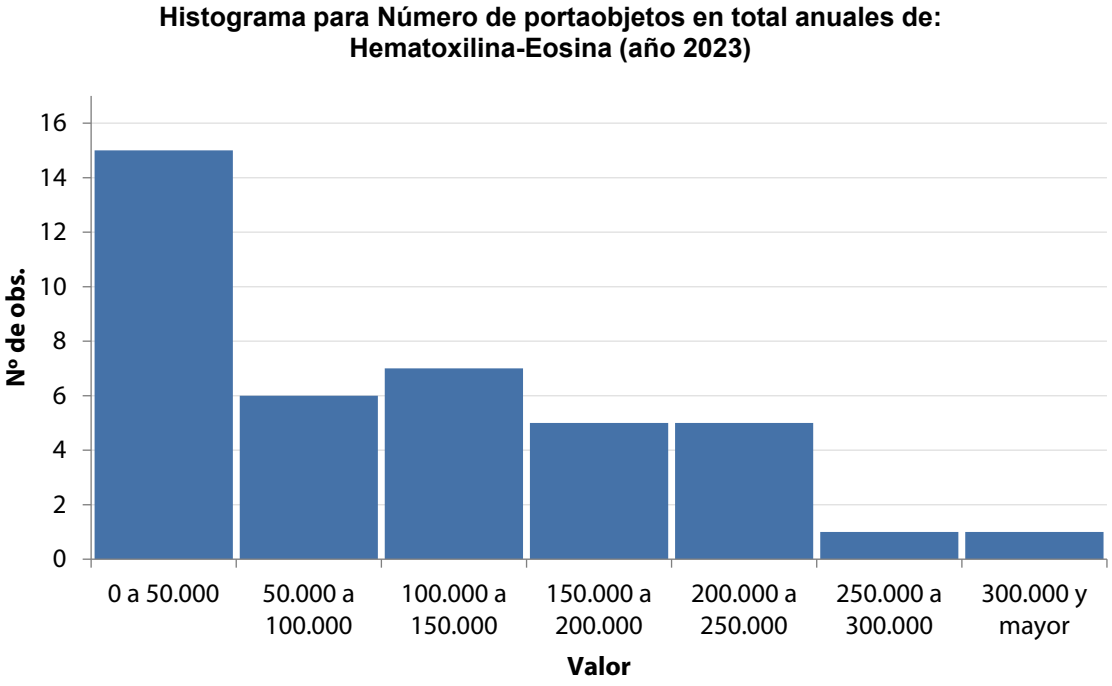
El alcance de digitalización mayoritario fue para autopsias, biopsias, citología cervicovaginal, citología general y bloques celulares. Otros centros también digitalizan para investigación y docencia, solo dos centros digitalizan muestras citológicas únicamente y solo dos centros digitalizan casos puntuales.

| **Distribución de frecuencia de Qué alcance tiene el plan de digitalización según tipo de muestra (Digitalización completa) (Se pueden marcar varias opciones) (N válido: 42)** | | |
|---|---|---|
| **Qué alcance tiene el plan de digitalización según tipo de muestra (Digitalización completa) (Se pueden marcar varias opciones)** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| Autopsias | 1 | 2 % |
| Autopsias, Biopsias, Citología Cérvicovaginal, Citología Bloques celulares, Docencia, investigación | 1 | 2 % |
| Autopsias, Biopsias, Citología general, Citología Cérvicovaginal | 1 | 2 % |
| Autopsias, Biopsias, Citología PAAF | 1 | 2 % |
| Autopsias, Biopsias, Citología PAAF, Citología general, Citología Cérvicovaginal, Citología Bloques celulares, | 1 | 2 % |
| Biopsias, Citología Cérvicovaginal | 1 | 2 % |
| Biopsias, Citología PAAF, Citología Bloques celulares | 1 | 2 % |
| Biopsias, Citología PAAF, Citología general, Citología Bloques celulares | 1 | 2 % |
| Citología Cérvicovaginal | 1 | 2 % |
| Citología general, Citología Cérvicovaginal | 1 | 2 % |
| Autopsias, Biopsias, Citología Cérvicovaginal, Citología Bloques celulares | 2 | 5 % |
| Biopsias, Citología PAAF, Citología general, Citología Cérvicovaginal, Citología Bloques celulares | 2 | 5 % |
| Digitalización puntual de casos | 2 | 5 % |
| Autopsias, Biopsias | 4 | 10 % |
| Biopsias | 5 | 12 % |
| Autopsias, Biopsias, Citología PAAF, Citología general, Citología Cérvicovaginal, Citología Bloques celulares | 7 | 17 % |
| Autopsias, Biopsias, Citología Bloques celulares | 10 | 24 % |
| **Total** | **42** | **100 %** |

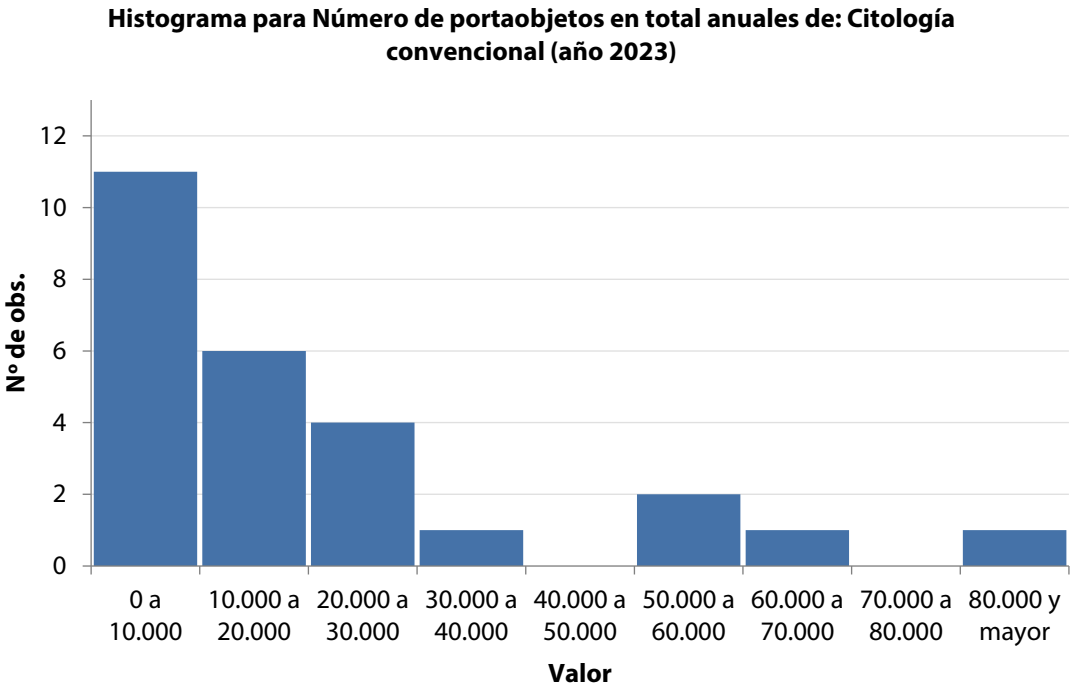
Según el tipo de técnica: 9 (21 %) centros digitalizan citología, hematoxilina y de forma variable la inmunohistoquímica, la histoquímica y la ISH. En 27 (86 %) centros se añade la macroscopía.

**NUMERO DE MUESTRAS DIGITALIZADAS**

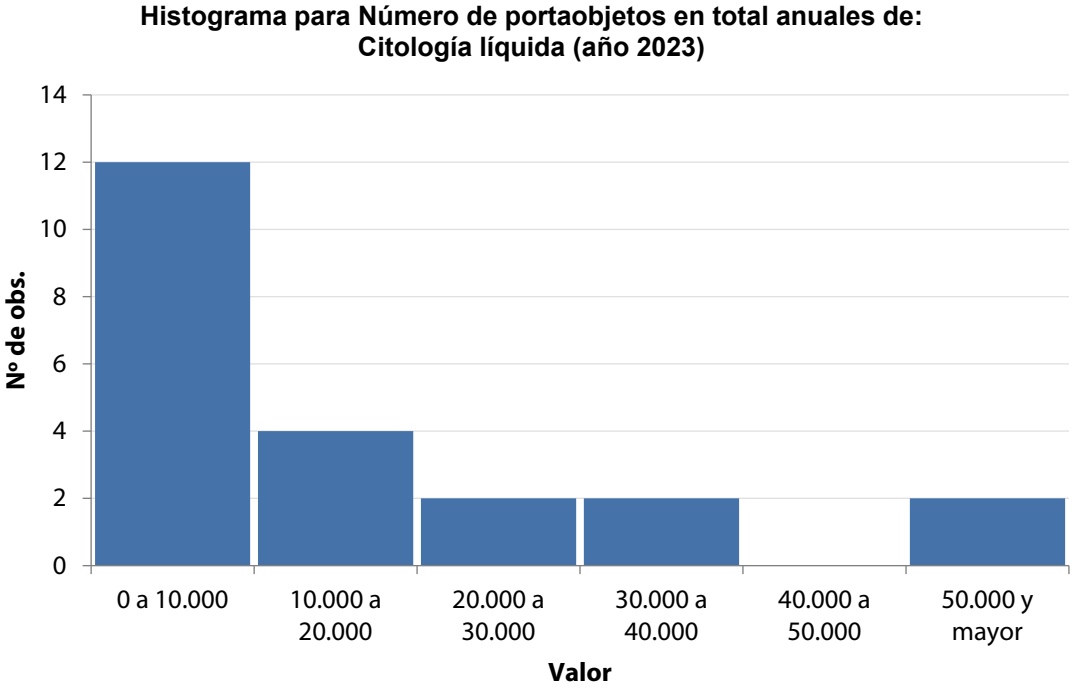
El número promedio por centro de portaobjetos teñidos con hematoxilina-eosina digitalizados durante el año 2023 fue proporcionado por 40 centros y fue de 99.758 ± 87.905 con un rango que oscilaba entre 30 y 349.115. La mayoría de los centros digitalizaban menos de 50.000 portaobjetos.



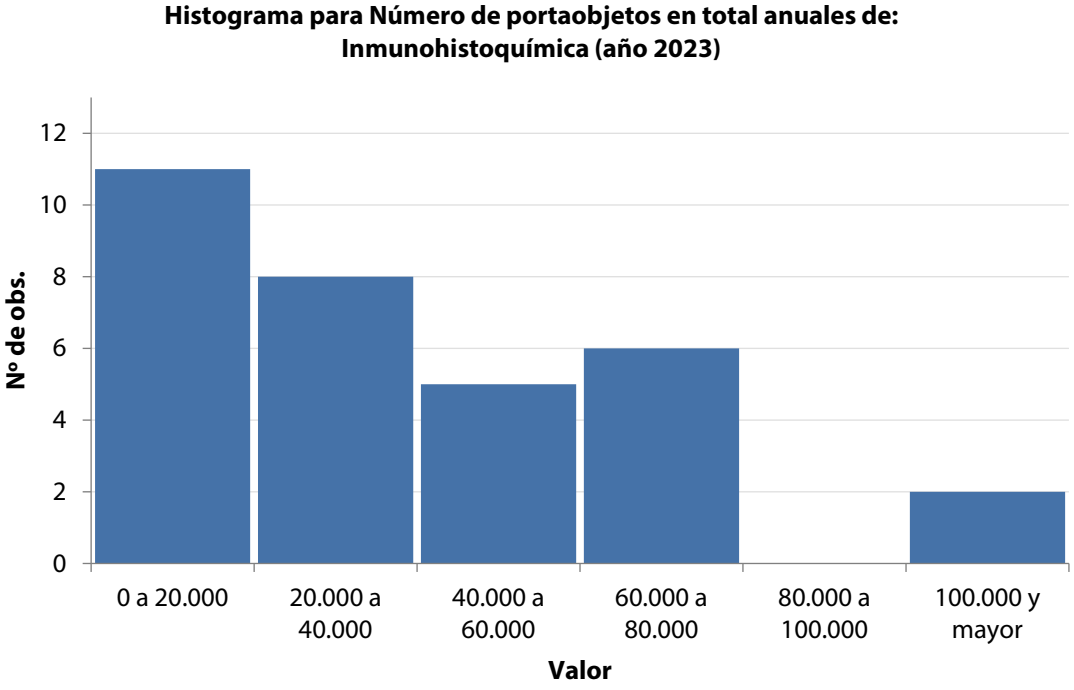

El número promedio por centro de extensiones de citología convencional digitalizadas durante el año 2023 fue proporcionado por 26 centros y fue de 19.012 ± 22.138 con un rango que oscilaba entre 327 y 83.670. La mayoría de los centros digitalizaban menos de 10.000 portaobjetos.



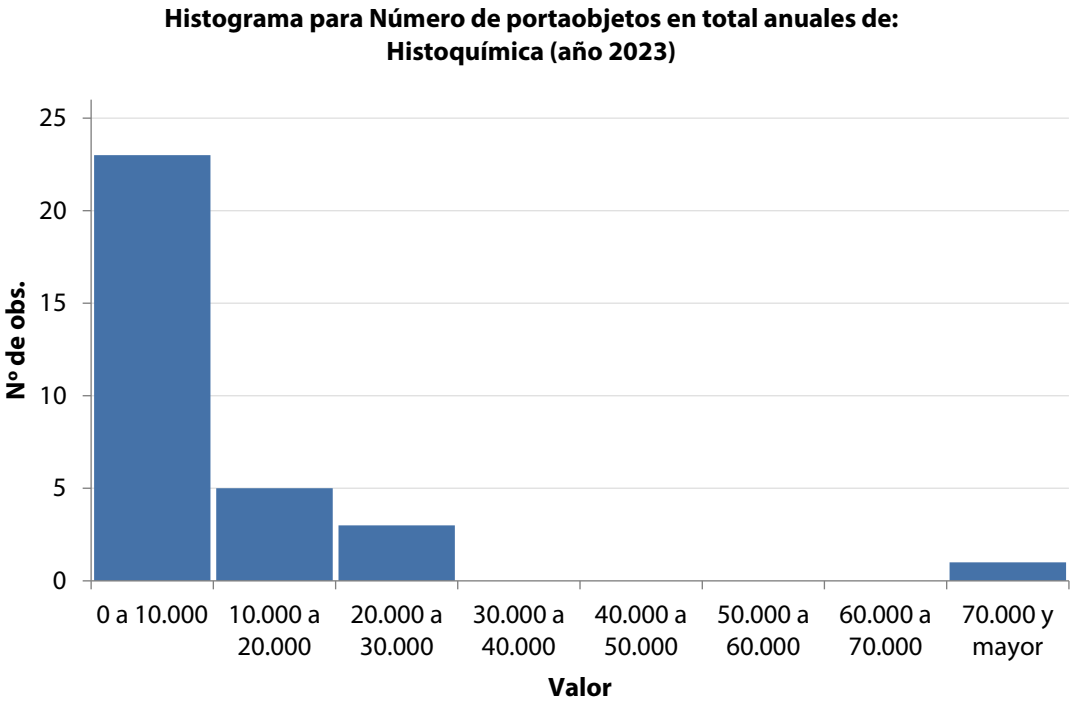
El número promedio por centro de preparaciones de citología en base líquida digitalizadas durante el año 2023 fue proporcionado por 22 centros y fue de 14.541±15.177 con un rango que oscilaba entre 1.000 y 54.158. La mayoría de los centros digitalizaban menos de 10.000 portaobjetos.



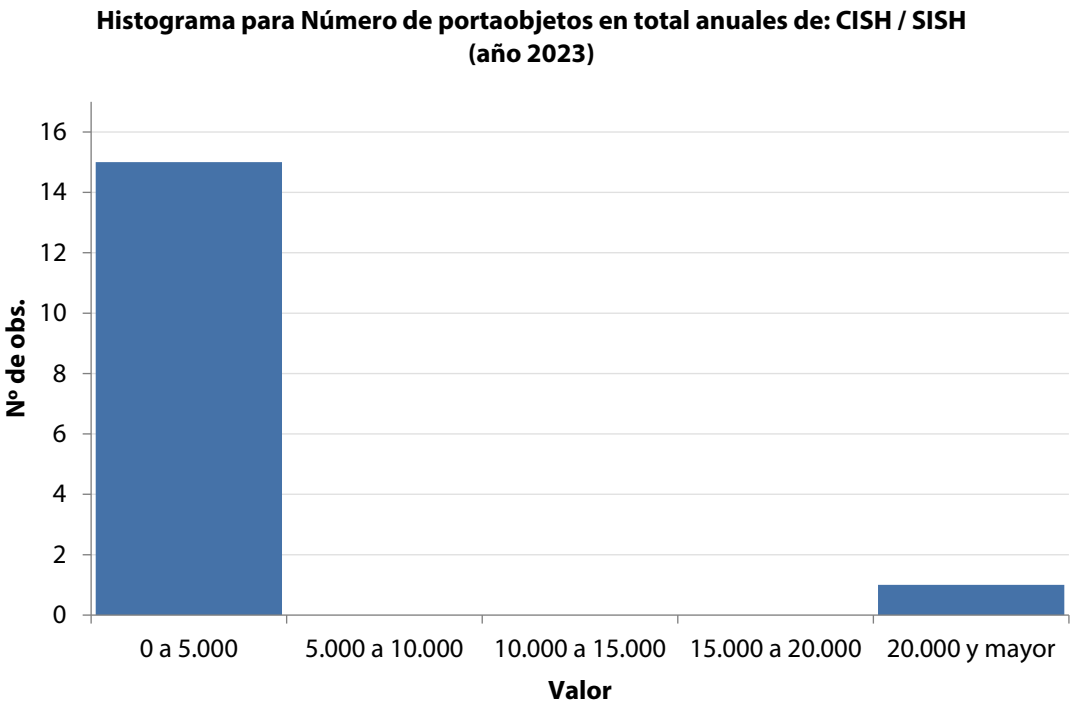

El número promedio por centro de portaobjetos teñidos con inmunohistoquímica digitalizados durante el año 2023 fue proporcionado por 32 centros y fue de 35.594 ± 29.446 con un rango que oscilaba entre 600 y 112.814. La mayoría de los centros digitalizaban menos de 40.000 portaobjetos.



El número promedio por centro de portaobjetos teñidos con histoquímica digitalizados durante el año 2023 fue proporcionado por 32 centros y fue de 9.464 ±13.857 con un rango que oscilaba entre 200 y 75.132. La mayoría de los centros digitalizaban menos de 10.000 portaobjetos.

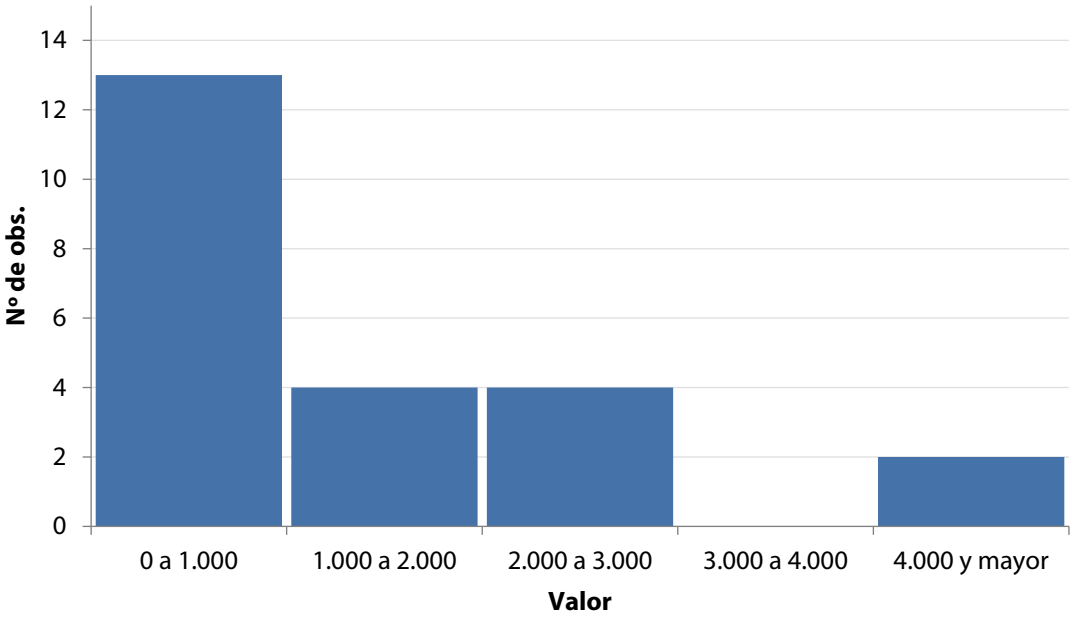



El número promedio por centro de portaobjetos teñidos con CIS/SISH digitalizados durante el año 2023 fue proporcionado por 16 centros y fue de 1.829 ± 6.196 con un rango que oscilaba entre 24 y 25.000. La mayoría de los centros digitalizaban menos de 5.000 portaobjetos.



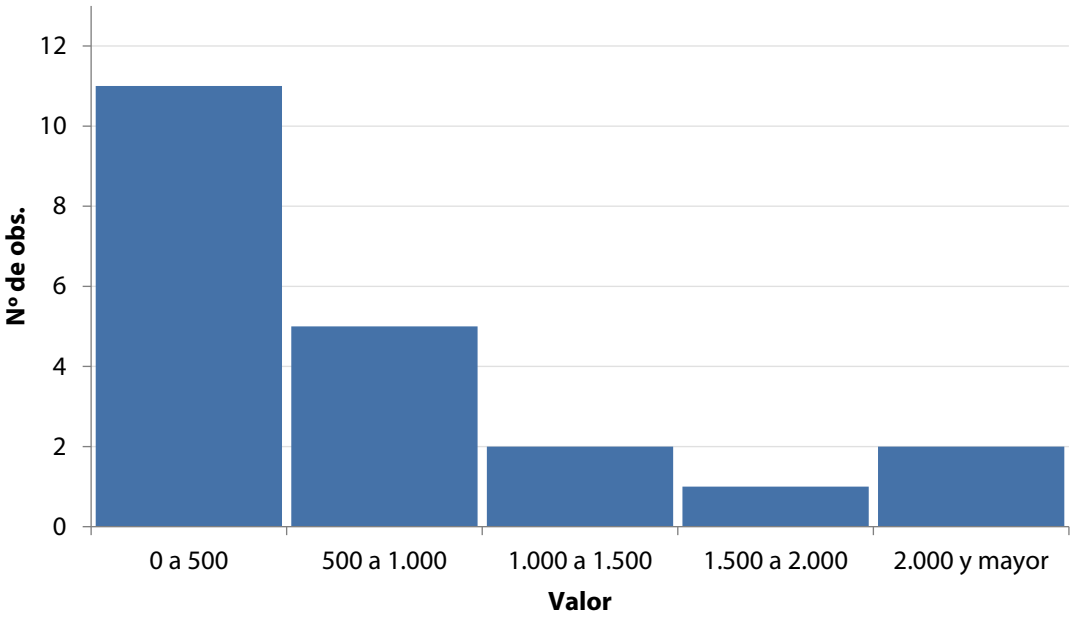
El número promedio por centro de portaobjetos teñidos con inmunofluorescencia directa digitalizados durante el año 2023 fue proporcionado por y 23 centros fue de 1.296 ± 1.284 con un rango que oscilaba entre 20 y 4.885. La mayoría de los centros digitalizaban menos de 1.000 portaobjetos.

**Histograma para Número de portaobjetos en total anuales de: Fluorescencia directa IFD (año 2023)**

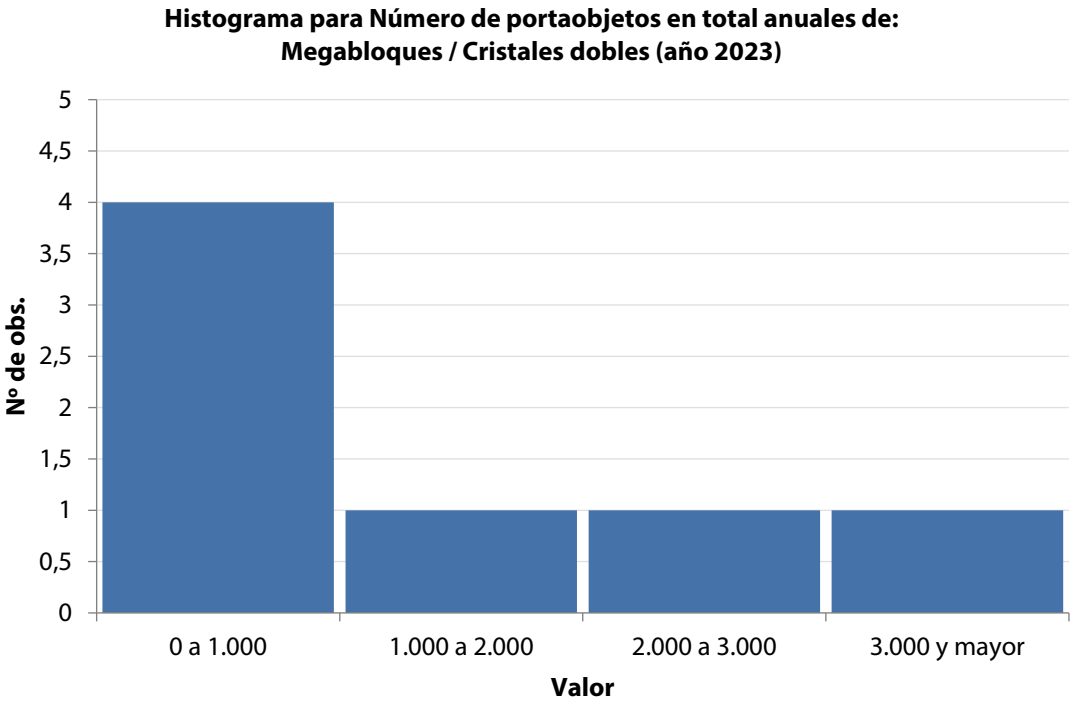



El número promedio por centro de portaobjetos teñidos con FISH digitalizados durante el año 2023 fue proporcionado por 21 centros y fue de 670 ± 639 con un rango que oscilaba entre 57 y 2.134. La mayoría de los centros digitalizaban menos de 500 portaobjetos.

**Histograma para Número de portaobjetos en total anuales de: FISH (año 2023)**



El número promedio por centro de megabloques o cristales dobles digitalizados durante el año 2023 fue proporcionado por 7 centros y fue de 1.233 ± 1.106 con un rango que oscilaba entre 50 y 3.120. La mayoría de los centros digitalizaban menos de 1.000 portaobjetos.

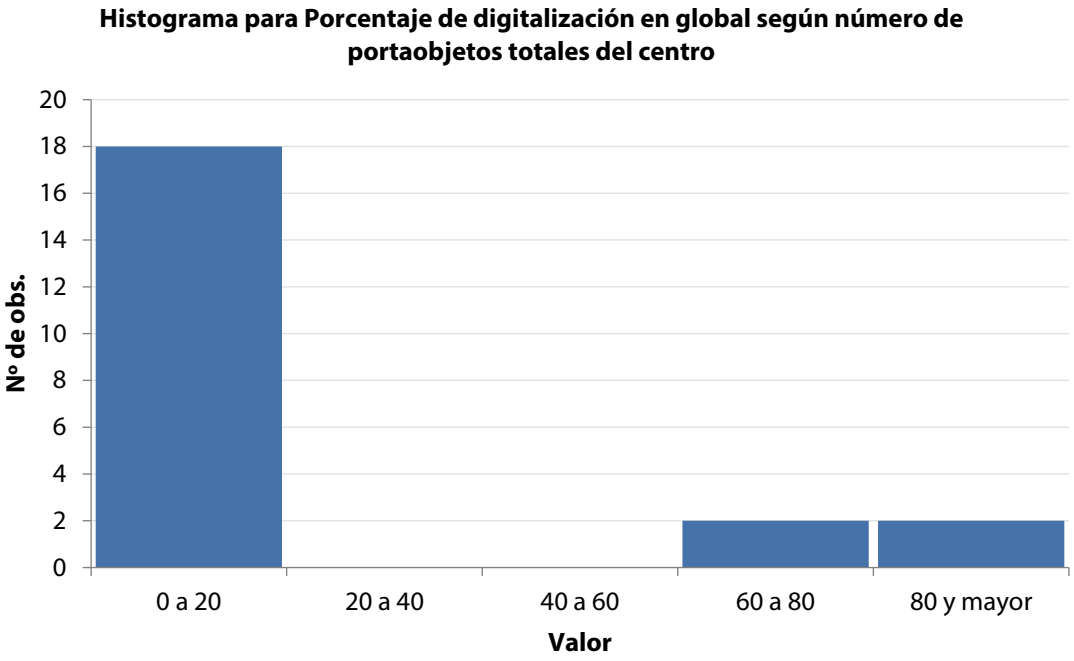



La distribución de las muestras digitalizadas según comunidades autónomas se expresa en las siguientes tablas.

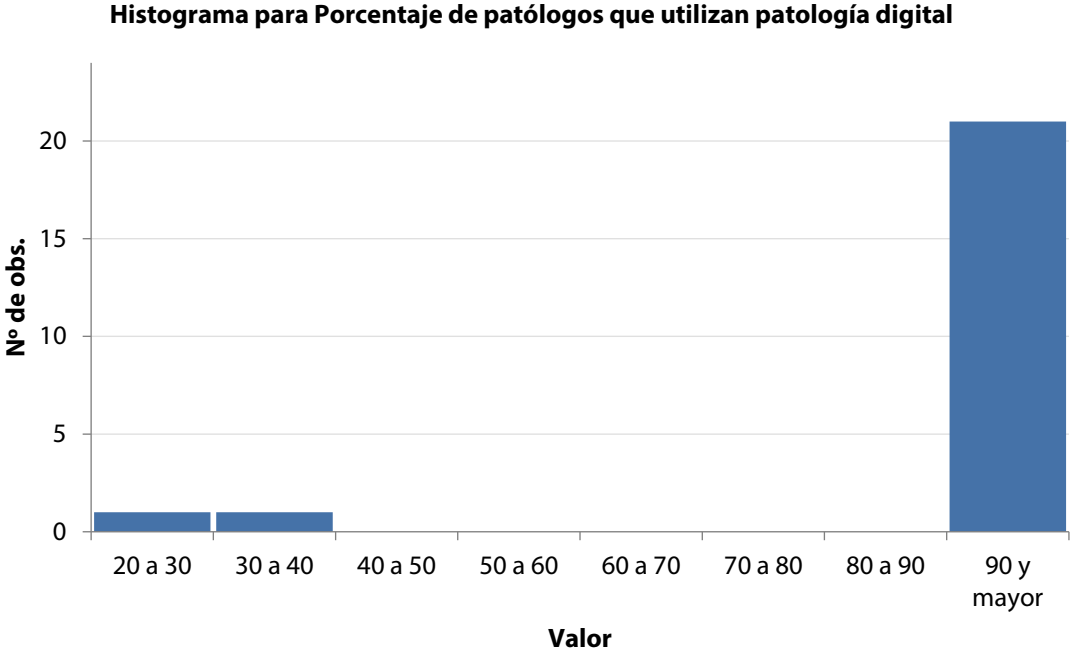
| | Portaobjetos HE | | | Portaobjetos citologia covencional | | | Portaobjetos citologia líquida | | | Portaobjetos IHQ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Grupos* | *Tamaño muestral* | *Media* | *Desv.Est.* | *Tamaño muestral* | *Media* | *Desv.Est.* | *Tamaño muestral* | *Media* | *Desv.Est.* | *Tamaño muestral* | *Media* | *Desv.Est.* |
| *Andalucía* | 7 | 27811 | 54435 | 4 | 7674 | 8532 | 2 | 26733 | 32905 | 4 | 28238 | 47862 |
| *Asturias* | 1 | 162000 | | 1 | 10000 | | 1 | 2900 | | 1 | 47400 | |
| *Canarias* | 2 | 100025 | 141386 | 2 | 16000 | 19799 | 1 | 1000 | | 2 | 12500 | 3536 |
| *Cantabria* | 1 | 160000 | | 1 | 2000 | | 1 | 25000 | | 1 | 53000 | |
| *Castilla la Mancha* | 1 | 6000000 | | 1 | 500 | | | | | | | |
| *Castilla y León* | 2 | 50831 | 50672 | 1 | 1000 | | 1 | 9750 | | 2 | 14240 | 19290 |
| *Cataluña* | 12 | 136519 | 55367 | 11 | 32689 | 27328 | 6 | 11515 | 11066 | 10 | 45378 | 20402 |
| *Comunidad de Madrid* | 6 | 133587 | 140876 | 3 | 10819 | 8498 | 5 | 25071 | 18941 | 4 | 51317 | 47666 |
| *Comunidad Valenciana* | 6 | 55351 | 54045 | 1 | 21100 | | 3 | 8452 | 2624 | 5 | 17707 | 5150 |
| *Navarra* | 1 | 200000 | | | | | | | | 1 | 75000 | |
| *Region de Murcia* | 1 | 200000 | | 1 | 5000 | | 2 | 4000 | 1414 | 2 | 24800 | 31396 |

| | Portaobjetos Histoquímica | | | Portaobjetos FISH/CISH | | | Portaobjetos IDF | | | Portaobjetos FISH | | | Megabloques | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Grupos* | *Tamaño muestral* | *Media* | *Desv.Est.* | *Tamaño muestral* | *Media* | *Desv.Est.* | *Tamaño muestral* | *Media* | *Desv.Est.* | *Tamaño muestral* | *Media* | *Desv.Est.* | *Tamaño muestral* | *Media* | *Desv.Est.* |
| *Andalucía* | 4 | 1126 | 1291 | 1 | 100 | | 2 | 360 | 481 | 1 | 1500 | | | | |
| *Asturias* | 1 | 8700 | | | | | 1 | 450 | | 1 | 357 | | | | |
| *Canarias* | 2 | 5000 | 4243 | 1 | 50 | | 1 | 2000 | | 1 | 2000 | | | | |
| *Cantabria* | 1 | 21500 | | 1 | 300 | | 1 | 2000 | | | | | | | |
| *Castilla la Mancha* | 2 | 3478 | 2656 | | | | | | | 1 | 106 | | | | |
| *Castilla y León* | | | | | | | 1 | 500 | | | | | | | |
| *Cataluña* | 10 | 9532 | 5287 | 5 | 204 | 98 | 9 | 1949 | 1640 | 9 | 590 | 464 | 3 | 850 | 1176 |
| *Comunidad de Madrid* | 5 | 24695 | 30131 | 3 | 9031 | 13862 | 4 | 1441 | 770 | 5 | 867 | 790 | 4 | 1522 | 1127 |
| *Comunidad Valenciana* | 5 | 1885 | 1497 | 4 | 159 | 179 | 3 | 182 | 185 | 3 | 156 | 127 | | | |
| *Navarra* | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Region de Murcia* | 2 | 11500 | 6364 | 1 | 70 | | 1 | 300 | | | | | | | |

Respecto al porcentaje digitalizado del total de portaobjetos del centro, contestaron 22 centros. El promedio fue de 15 ± 31 con un rango que oscilaba entre 0.7 y el 99 % de los casos. La mayoría de los centros digitaliza menos del 20 % de casos.




El porcentaje de patólogos de cada centro que utilizan la patología digital fue constatado por 23 centros. El porcentaje medio fue del 93 ± 20 con un rango que oscilaba entre el 25 y el 100 %. En la mayoría de los centros más del 90 % usaban la patología digital.




En aquellos casos en los que la digitalización no era total, se utilizaba sobre todo para digitalizar preparaciones citológicas.

| Distribución de frecuencia de Si no se realiza digitalización completa y se realiza digitalización parcial o de casos puntuales, en qué casos o subespecialidades se digitaliza (N válido: 10) | | |
|---|---|---|
| **Si no se realiza digitalización completa y se realiza digitalización parcial o de casos puntuales, en qué casos o subespecialidades se digitaliza** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| Casos puntuales docencia | 1 | 10 % |
| Según interés del patólogo | 1 | 10 % |
| Algunas especialidades | 4 | 40 % |
| Citología | 4 | 40 % |
| **Total** | **10** | **100 %** |

**SISTEMA DE FOTOGRAFÍA MACROSCÓPICA**

En 36 (**67 %**) centros se disponía de sistema fotográfico digital para macroscopía.

El número de dispositivos disponibles oscilaba entre 1 y 11. La mayoría de los centros tenía 1 (54 %) o 2 (23 %) dispositivos.

| Distribución de frecuencia de ¿Cuántos dispositivos? (N válido: 35) | | |
|---|---|---|
| **¿Cuántos dispositivos?** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| 1 | 19 | 54 % |
| 2 | 8 | 23 % |
| 3 | 4 | 11 % |
| 4 | 2 | 6 % |
| 8 | 1 | 3 % |
| 11 | 1 | 3 % |
| **Total** | **35** | **100 %** |

El modelo más utilizado fue **Macropath** en 19 (68 %) centros.

| Distribución de frecuencia de ¿Qué modelos/sistemas? (N válido: 28) | | |
|---|---|---|
| **¿Qué modelos/sistemas?** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| Canon | 1 | 4 % |
| CIRDAN | 1 | 4 % |
| Digipath | 1 | 4 % |
| Eliantus, incorporados en mesa de tallado | 1 | 4 % |
| VividPath | 1 | 4 % |
| Sin especificar | 4 | 14 % |
| Macropath | 19 | 68 % |
| **Total** | **28** | **100 %** |

En 27 (**63 %**) de los 43 centros que contestaron a la pregunta, este sistema estaba **conectado al LIS/SIAP** del centro. Y en 26 (70 %) de 37 que contestaron el sistema de fotografía macroscópica está integrado con el Visor de imágenes de patología digital / Sistema de Gestión de Imagen.

## ESCÁNERES

En relación con el número de escáneres disponibles respondieron 36 centros. De estos, 14 (39 %) disponía de 1 escáner. La mayoría de los centros disponía de hasta 3 escáneres. Contando todos los centros existían **91 escáneres**.

| Distribución de frecuencia de ¿De cuántos escáneres se dispone en el centro? (N válido: 36) | | |
|---|---|---|
| **¿De cuántos escáneres se dispone en el centro?** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| 1 | 14 | 39 % |
| 2 | 7 | 19 % |
| 3 | 8 | 22 % |
| 4 | 3 | 8 % |
| 6 | 2 | 6 % |
| 7 | 1 | 3 % |
| 8 | 1 | 3 % |
| **Total** | **36** | **100 %** |

La marca de **escáner más utilizado** fue 3D Histech seguido de Philips.

| Distribución de frecuencia de ¿De qué modelos de escáner se dispone en el centro? (N válido: 35) | | |
|---|---|---|
| **Marca** | **Modelo** | **Recuento** |
| **3DHistech** | | 37 |
| | Pannoramic 1000 | 12 |
| | Pannoramic 480 | 3 |
| | Pannoramic 250 | 11 |
| | Pannoramic 150 / Scan II | 5 |
| | MIDI | 3 |
| | Desk | 1 |
| | No especificado | 2 |
| **Philips** | | 28 |
| | SG300 | 16 |
| | UFS | 12 |
| **Leica** | | 11 |
| | Aperio CS2 | 4 |
| | No especificado | 7 |
| **Roche** | | 6 |
| | DP200 | 1 |
| | DP600 | 1 |
| | No especificado | 4 |
| **Hamamatsu** | | 5 |
| | S210 | 1 |
| | S360 | 3 |
| | No especificado | 1 |
| **Hologic** | | 4 |
| | Genius | 4 |

El uso principal de los escáneres fue el asistencial en 22 (65 %) de los centros, seguido de la docencia en 6 (18 %). El resto lo hacían en casos puntuales como técnicas de IFD, molecular…

| Distribución de frecuencia de ¿Cuál es el uso principal de los escáneres del centro? (N válido: 34) | | |
|---|---|---|
| **¿Cuál es el uso principal de los escáneres del centro?** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| Cuantificación | 1 | 3 % |
| Casos puntuales | 5 | 15 % |
| Docencia e investigación | 6 | 18 % |
| Asistencial | 22 | 65 % |
| **Total** | **34** | **100 %** |

**ALMACENAMIENTO**

En referencia al tiempo que se guardan las imágenes antes de ser borradas, 11 (34 %) de los centros las guardaban indefinidamente. Sólo 3 (9 %) de los centros no las guardaban.

| Distribución de frecuencia de ¿Cuánto tiempo se guardan las imágenes escaneadas antes de ser borradas del centro? (describir si existen diferentes tipos de lógica) (Casos positivos / interesantes / todos / según SNOMED / según tipos de muestra / etc.) (meses) (N válido: 32) | | |
|---|---|---|
| **¿Cuánto tiempo se guardan las imágenes escaneadas antes de ser borradas del centro? (describir si existen diferentes tipos de lógica) (Casos positivos / interesantes / todos / según SNOMED / según tipos de muestra / etc.) (meses)** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| 3 | 1 | 3 % |
| 6 | 1 | 3 % |
| 8 | 3 | 9 % |
| 9 | 1 | 3 % |
| 10 | 1 | 3 % |
| 12 | 1 | 3 % |
| Hasta que se agote el almacenamiento | 3 | 9 % |
| No se guardan | 3 | 9 % |
| Las imágenes se guardan TODAS en el CPD del centro hasta 75 días después de la firma del informe | 7 | 22 % |
| Indefinido | 11 | 34 % |
| **Total** | **32** | **100 %** |

El tamaño en TB de almacenamiento disponible oscilo entre 5 y 750 TB. En 4 (21 %) de los centros disponían de 45 TB. Algo más de la mitad de los centros disponía de hasta 68TB de almacenamiento.

| **Distribución de frecuencia de ¿De cuántos TB de almacenamiento se dispone en el centro? (N válido: 19)** | | |
|---|---|---|
| **¿De cuántos TB de almacenamiento se dispone en el centro?** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| 5 TB | 1 | 5 % |
| 5,7 TB | 1 | 5 % |
| 10 TB | 1 | 5 % |
| 12 TB | 1 | 5 % |
| 45 TB | 4 | 21 % |
| 64 TB | 1 | 5 % |
| 68 TB | 1 | 5 % |
| 80 TB | 1 | 5 % |
| 97 TB | 1 | 5 % |
| 105 TB | 1 | 5 % |
| 128 TB | 1 | 5 % |
| 152 TB | 1 | 5 % |
| 160 TB | 1 | 5 % |
| 250 TB | 1 | 5 % |
| 400 TB | 1 | 5 % |
| 750 TB | 1 | 5 % |
| **Total** | **19** | **100 %** |

Los formatos de almacenamiento más utilizados fueron el MRXS (3DHistech) (12, 24 %), DICOM (12, 24 %) y ISYNTAX (Philips) (7, 14 %)

| **Distribución de frecuencia de ¿En qué formato se guardan las imágenes escaneadas en el centro? (N válido: 34)** | | |
|---|---|---|
| **Formato** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| DICOM | 12 | 24 % |
| Hologic | 1 | 2 % |
| ISYNTAX (Philips) | 7 | 14 % |
| JPEG2000 | 1 | 2 % |
| MRXS (3DHistech) | 12 | 24 % |
| NDPI/NDPIS (Hamamatsu) | 4 | 8 % |
| SCN (leica) | 1 | 2 % |
| SVS (Aperio/Leica) | 6 | 12 % |
| TIF/TIFF | 5 | 10 % |
| **Total** | **49** | |

La posibilidad de disponer de almacenamiento a **largo plazo** fuera del entro estaba disponible en 24 (**67 %**) de 36 centros.

**MONITOR DE VISUALIZACIÓN**

Atendiendo a las características del monitor utilizado para la visualización de las imágenes, la mayoría de los centros, 12 (55 %) disponían de **monitores de 32".** El rango de los monitores utilizados oscilaba entre 23,8" y 32".

| Distribución de frecuencia de Tamaño (en pulgadas) del monitor diagnostico (N válido: 22) | | |
|---|---|---|
| **Tamaño (en pulgadas) del monitor diagnóstico** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| **24"** *(23,8"-24")* | 2 | 9 % |
| **27" (***27"-28")* | 4 | 18 % |
| **32" (***30"-32")* | 16 | 73 % |
| **Total** | **22** | **100 %** |

La resolución del monitor en la mayoría de los centros, 8 de 17 (47 %) era de 3840 × 2160 pixeles.

| Distribución de frecuencia de Resolución (en píxeles) del monitor diagnostico (N válido: 17) | | |
|---|---|---|
| **Resolución (en píxeles) del monitor diagnóstico** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| Full HD (1920×1080) | 4 | 24 % |
| QHD (2560×1440) | 1 | 6 % |
| WQXGA (2560×1600) | 1 | 6 % |
| 4K UHD (3840×2160) | 10 | 59 % |
| 4K Cinema (4096×2160) | 1 | 6 % |
| **Total** | **17** | **100 %** |

**LG** fue la marca del monitor más utilizada en 12 (**60 %**) de los centros para el monitor diagnóstico.

| Distribución de frecuencia de Modelo del monitor diagnostico (N válido: 20) | | |
|---|---|---|
| **Modelo del monitor diagnóstico** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| BARCO para citología y DELL para biopsias | 1 | 5 % |
| Dell | 1 | 5 % |
| HP EliteDisplay | 1 | 5 % |
| HPz24n | 1 | 5 % |
| EIZO | 2 | 10 % |
| HP | 2 | 10 % |
| LG *no especificado* | 5 | 25 % |
| LG 32HL512D grado médico | 7 | 35 % |
| **Total** | **20** | **100 %** |

**LG** también fue la marca más utilizada para el monitor **secundario**.

| Distribución de frecuencia de Modelo del monitor auxiliar (no diagnóstico, si se dispone de segundo monitor) (N válido: 14) | | |
|---|---|---|
| **Modelo del monitor auxiliar (no diagnóstico, si se dispone de segundo monitor)** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| convencional | 1 | 7 % |
| Dell 24 « | 1 | 7 % |
| HP | 1 | 7 % |
| HP E223 | 1 | 7 % |
| HP E24 G4 | 1 | 7 % |
| LG *no especificado* | 2 | 14 % |
| LG 32HL512D grado médico | 7 | 50 % |
| **Total** | **14** | **100 %** |

En 19 centros se disponía de monitor para docencia. El número de monitores y modelos usados, cuando se especificaron, fueron:

- 1 monitor de 50''
- 1 Samsung de más 50 pulgadas
- 2 Samsung 72 pulgadas
- 4 Philips, entre 60 y 100 pulgadas
- 2 de 55 pulgadas
- 1 NEC
- 1 monitor de 55 pulgadas
- 4 monitores de 55 pulgadas
- 3 de 75'' LG

**DISPOSITIVOS ERGONÓMICOS**

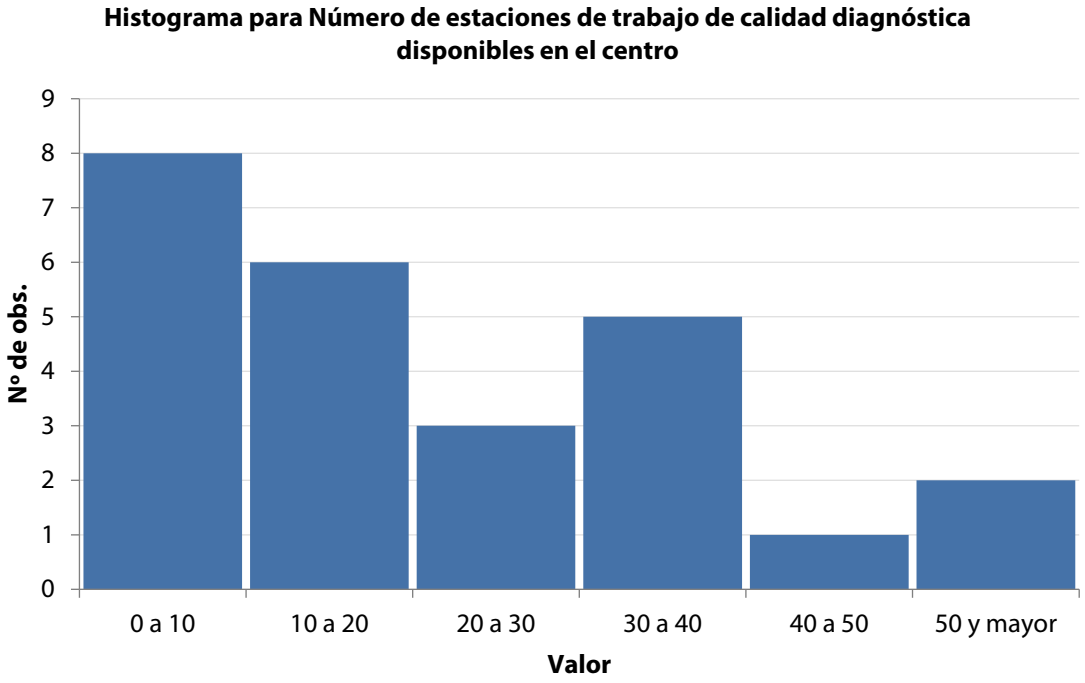
En 27 (**69 %**) de 39 centros se utilizaba un **dispositivo ergonómico alternativo al ratón** para navegar por la imagen.

La marca más utilizada fue **3DHistech** en 8 (80 %) de los centros.

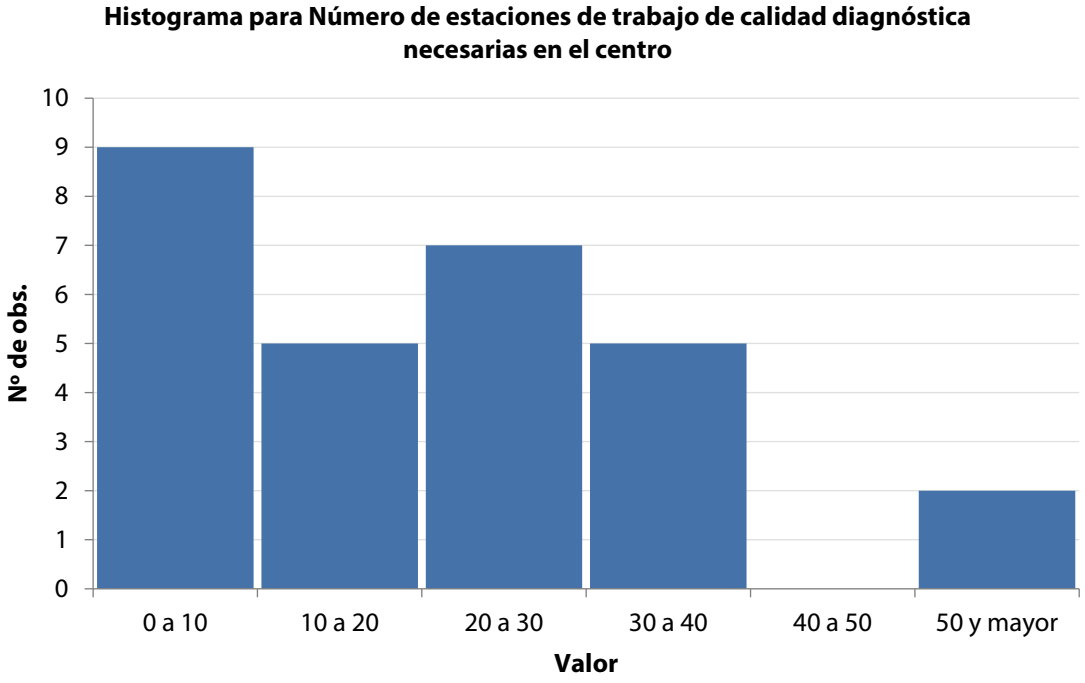
| Distribución de frecuencia de ¿De qué dispositivo ergonómico alternativo en el ratón para navegar por la imagen se dispone? (N válido: 10) | | |
|---|---|---|
| **¿De qué dispositivo ergonómico alternativo en el ratón para navegar por la imagen se dispone?** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| Kensington Expert Mouse Trackball | 1 | 10 % |
| Ratón vertical y ratón ergonómico | 1 | 10 % |
| 3D connexion Space Mouse Pro | 2 | 20 % |
| 3DHistech Slide Driver que imita al microscopio | 6 | 60 % |
| **Total** | **10** | **100 %** |

**NÚMERO DE ESTACIONES**

A la pregunta del **número de estaciones de calidad diagnóstica que disponía** el centro, contestaron 25 centros. El promedio de estaciones fue de 20±16 con un rango que oscilaba entre 1 y 55 estaciones. La mayoría de los centros tenían 20 o menos estaciones de trabajo.




El numero promedio de estaciones que cada participante **estimaba que eran necesarias por centro** era de 20±14 en los 28 centros que contestaron. El rango oscilaba entre 1 y 55 estaciones. La mayoría de los centros necesitaban entre 20 o menos.



**SOFTWARE**

El **software de visualización** más utilizado fue de 3DHistech, en 11 (44 %) de los centros, seguido por Philips en 7 (28 %) de los centros.

| Distribución de frecuencia de ¿De qué software de visualización de imagen se dispone? (Visor y sistema de gestión de la imagen SGI) (N válido: 25) | | |
|---|---|---|
| **¿De qué software de visualización de imagen se dispone? (Visor y sistema de gestión de la imagen SGI)** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| 3DHistech | 11 | 44 % |
| Philips | 7 | 28 % |
| NZ connect | 2 | 8 % |
| Sectra | 1 | 4 % |
| Visor Web (No especificado) | 1 | 4 % |
| Olympus | 1 | 4 % |
| Concentriq Dx (Proscia) | 1 | 4 % |
| **Total** | **25** | **100 %** |

El **LIS/SIAP** más utilizado fue PatWin en 15 (30 %) centros, seguido de Vitropath en 8 (16 %) y ETPAT en 7 (14 %).

| Distribución de frecuencia de ¿De qué LIS / Sistema Información Anatomía Patológica se dispone? (N válido: 50) | | |
|---|---|---|
| **¿De qué LIS / Sistema Información Anatomía Patológica se dispone?** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| Aperio Cerebro | 1 | 2 % |
| Dedalus / PAT-Win | 1 | 2 % |
| LIMS | 1 | 2 % |
| Openlab | 1 | 2 % |
| Anapat | 2 | 4 % |
| Atlas (DBSoft, SL) | 4 | 8 % |
| Propio del centro | 4 | 8 % |
| Gestpath | 6 | 12 % |
| ETPAT (Institut Català de la Salut) | 7 | 14 % |
| Vitropath | 8 | 16 % |
| Patwin | 15 | 30 % |
| **Total** | **50** | **100 %** |

Solo en 29 (**59 %**) centros, el LIS tenía la posibilidad de trabajar con imágenes digitalizadas.

Solo en 18 (**46 %**) de 39 centros el LIS/SIAP se encontraba **integrado** con el visor de imágenes diagnóstica.

**TRAZABILIDAD**

La mayoría de los centros que contestaron sobre los **puntos de trazabilidad**, estos se encontraban a nivel de:

- Registro
- Macro
- Confección de bloques
- Corte
- Tinción
- Entrega

La **solicitud electrónica** estaba disponible en 44 (**85 %**) de 52 centros.

**ALGORITMOS DE INTELIGENCIA ARTIFICIAL**

En **15 centros** se disponía de algoritmos de **inteligencia artificial integrados** en producción para diagnóstico primario. Estos algoritmos eran:

| Distribución de frecuencia de ¿De qué algoritmos se dispone en producción? (Si aplica) (N válido: 15) | | |
|---|---|---|
| **¿De qué algoritmos se dispone en producción? (Si aplica)** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| Algoritmos DigiPatICS-UPC mama: Her2 / Ki67 / RE / RP | 7 | 47 % |
| Genius Digital Diagnostics System para citología ginecológica | 2 | 14 % |
| Helicobacter Pylori, RE y RP, Ki-67, p53 y esofagitis eosinofílica | 1 | 7 % |
| IBEX | 1 | 7 % |
| IBEX-IA MAMA, PRÓSTATA | 1 | 7 % |
| Mama | 1 | 7 % |
| Mama, PDL1, | 1 | 7 % |
| VISIOPHARM | 1 | 7 % |
| **Total** | **15** | **100 %** |

**DISPOSITIVOS DE IDENTIFICACIÓN**

La **etiquetadora de portaobjetos** con código QR-Bidi-Datamatrix estaba disponible en 47 (88 %) de 53 centros. La etiquetadora de casetes con código QR-Bidi-Datamatrix estaba disponible en 45 (85 %) de 53 centros.

Un total de 45 centros respondieron tener un **sistema de montaje automatizado**. La mayoría de ellos, 24 (53 %) mediante cubreobjetos.

| Distribución de frecuencia de ¿Se dispone de montaje automatizado? (N válido: 45) | | |
|---|---|---|
| **¿Se dispone de montaje automatizado?** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| Film, Cubreobjetos | 5 | 11 % |
| Film | 16 | 36 % |
| Cubreobjetos | 24 | 53 % |
| **Total** | **45** | **100 %** |

**TELETRABAJO**

En 31 (**62 %**) de 50 centros existía un sistema que permitía el teletrabajo una vez implementada la patología digital. Y el **teletrabajo esta implementado** en 26 (**65 %**) de 44 centros.

La frecuencia con que se realiza el teletrabajo es variable:

| Distribución de frecuencia de En caso afirmativo, ¿Con qué frecuencia se permite realizar teletrabajo? (días a la semana) N válido: 19 | | |
|---|---|---|
| **En caso afirmativo, ¿Con qué frecuencia se permite realizar teletrabajo? (días a la semana)** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| 30 % tiempo mensual | 1 | 5 % |
| Al ritmo que cada uno quiera. | 1 | 5 % |
| Casos puntuales | 1 | 5 % |
| Módulos de tarde para lista de espera | 1 | 5 % |
| Libre disponibilidad | 1 | 5 % |
| 1-2 días a la semana | 2 | 11 % |
| 2 | 4 | 21 % |
| 1 | 8 | 42 % |
| **Total** | **19** | **100 %** |

El **73 %** de las respuestas indican la posibilidad de realizar teletrabajo **1-2 días semanales**.

**ACEPTACIÓN DE LA PATOLOGÍA DIGITAL**

El grado de **aceptación inicial** de la patología digital fue mayor de **8 puntos sobre 10 en el 79 %** de los 24 centros que contestaron la pregunta.

| **Distribución de frecuencia de Si la patología digital ya se ha implementado, ¿Cuál fue el grado de aceptación inicial? (N válido: 24)** | | |
|---|---|---|
| **Si la patología digital ya se ha implementado, ¿Cuál fue el grado de aceptación inicial?** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| 6 | 1 | 4 % |
| 7 | 4 | 17 % |
| 8 | 11 | 46 % |
| 9 | 4 | 17 % |
| 10 | 4 | 17 % |
| **Total** | **24** | **100 %** |

**Tras un tiempo, la aceptación** de la patología digital obtuvo una puntuación es de **8 o más en todos los centros.**

| **Distribución de frecuencia de Si la patología digital ya se ha implementado, ¿Cuál fue el grado de aceptación tras un tiempo? (N válido: 6)** | | |
|---|---|---|
| **Si la patología digital ya se ha implementado, ¿Cuál fue el grado de aceptación tras un tiempo?** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| 8 | 3 | 50 % |
| 9 | 1 | 17 % |
| 10 | 2 | 33 % |
| **Total** | **6** | **100 %** |

Los mayores obstáculos que los centros han considerado que ha habido durante la implementación son:

- Coste, almacenamiento, etiquetas compatibles y limpieza de preparaciones.
- El almacenamiento a largo plazo y a veces la lentitud de la red.
- Integración con terceros, infraestructura de red.
- la convivencia con el microscopio.
- La integración con el LIS.
- La visualización de detalles nucleares no es la más satisfactoria a pesar de tener una excelente calidad de escaneo. Tampoco se visualizan de forma clara algunos gérmenes (*H.Pylori* sobre todo), fallos en el foco en biopsias muy pequeñas, no escaneo de laminillas sin muestra, deficiente calidad global en el escaneo de IHQ.

El **coste económico** fue el problema inicial considerado como freno a la implementación de la patología digital en la mayoría de los centros. La **falta de compromiso por parte de la dirección** o gerencia y el almacenamiento también fueron uno de los motivos más argumentados.

**VALIDACIÓN DEL EQUIPO**

Aquellos centros que llevaron a cabo un proceso de validación lo realizaron en su mayoría siguiendo las normas del Colegio Americano de Patólogos (3,50 %).

| **Distribución de frecuencia de Si se dispone de patología digital en producción, ¿se ha realizado proceso de validación?: (N válido: 6)** | | |
|---|---|---|
| **Si se dispone de patología digital en producción, ¿se ha realizado proceso de validación?:** | **Recuento** | **Porcentaje** |
| Si | 2 | 33 % |
| SI, según procedimiento interno | 1 | 17 % |
| Si, utilizando normas del CAP | 3 | 50 % |
| **Total** | **6** | **100 %** |

Además, en 4 centros se efectuó una validación de diferentes áreas diagnósticas mediante la comparación del diagnóstico microscópico con el digital. En otro centro, además de la validación interna se utilizó un procedimiento aportado por la casa comercial (Philips y Hologic).

**RESUMEN**

- A pesar de que hay digitalización en la práctica totalidad del territorio nacional, más de dos terceras partes de los servicios digitalizados reportados se encuentran en Andalucía, Cataluña, Comunidad de Madrid y Comunidad Valenciana.
- La mayoría de los centros cuenta con un plan de digitalización finalizado y sobre todo se plantea como proyecto en red de centros.
- El alcance de los planes de digitalización incluye tanto a biopsias como citología, bloques celulares y autopsias.
- En todos los centros con digitalización, más del 90 % de los patólogos la usan.
- La fotografía digital macroscópica está implementada en la mayoría de los centros y esta está integrada en el LIS y en el visor de imágenes digitales.
- Entre los encuestados se han censado 91 escáneres y la mayoría de los centros dispone de un equipo.
- El uso principal de la patología digital es el asistencial, aunque también se utiliza para cuantificación y docencia e investigación.
- El almacenamiento indefinido de las imágenes digitales solo se utiliza en una tercera parte de los centros. En el resto es temporal.
- Entre los dispositivos periféricos utilizados destacan los monitores grandes y de gran resolución y los dispositivos ergonómicos alternativos al ratón.
- Solo en aproximadamente la mitad de los centros el LIS tiene posibilidad de trabajar con imágenes digitales y también en la mitad de los centros el LIS está integrado al visor de imágenes.
- Algunos centros disponen de algoritmos de IA aplicables a la práctica diagnóstica.
- Pocos centros han hecho una validación del sistema.
- El grado de satisfacción con la patología digital es alto, sobre todo después de un periodo de adaptación.

## CONCLUSIONES

**El avance de la Patología Digital es constante pero desigual:** A pesar de que hay digitalización en la práctica totalidad del territorio nacional, más dos terceras partes de los servicios digitalizados reportados se encuentran en Andalucía, Cataluña, Comunidad de Madrid y Comunidad Valenciana

**El modelo/plan más común es en Red:** La mayoría de los centros cuenta con un plan de digitalización finalizado y sobre todo se plantea como proyecto en red de centros

**Buena aceptación:** En centros digitalizados, más del 90 % de los patólogos usan la tecnología. La aceptación inicial fue alta (79 % con nota ≥8), y tras un periodo de adaptación, fue del 100 % con nota ≥8.

**Finalidad asistencial como eje central:** El uso principal de la patología digital es el asistencial, aunque también se utiliza para cuantificación y docencia e investigación.

**Infraestructuras y recursos sólidos:** La fotografía digital macroscópica está implementada en la mayoría de los centros y esta está integrada en el LIS y en el visor de imágenes digitales. Se han censado 91 escáneres y la mayoría de los centros dispone de un equipo. Entre los dispositivos periféricos utilizados destacan los monitores grandes, de 32", de gran resolución (4K UHD (3840×2160)) y los dispositivos ergonómicos alternativos al ratón.

**Principales obstáculos para la digitalización:**

- **Costes** de implementación iniciales. Costes elevados de mantenimiento.
- Dificultades en el **almacenamiento** a largo plazo: El almacenamiento indefinido de las imágenes digitales solo se utiliza en una tercera parte de los centros. En el resto es temporal.
- **Integración** de sistemas: Solo en aproximadamente la mitad de los centros el LIS tiene posibilidad de trabajar con imágenes digitales y también en la mitad de los centros el LIS está integrado al visor de imágenes. La necesidad de integración es evidente des de la planificación inicial de la transformación digital.
- **Calidad** de escaneo en ciertas técnicas o tejidos.

**Uso de IA en crecimiento, pero aún limitado:** Algunos centros disponen de algoritmos de IA aplicables a la práctica diagnóstica.

**Teletrabajo:** 62 % de los centros permite el trabajo remoto, el modelo habitual incluye 1-2 días de teletrabajo semanales.

**Falta de validación:** Solo unos pocos centros han realizado una validación formal de los sistemas, y los que lo han hecho han seguido normas como las del Colegio Americano de Patólogos.

La digitalización de la anatomía patológica en España ha avanzado notablemente, con la mayoría de los centros contando con planes activos y una alta aceptación por parte de los usuarios. No obstante, persisten retos importantes: pocos centros conservan las imágenes de forma indefinida, la integración con los sistemas de información aún es limitada, y la validación formal de los sistemas es escasa. Además, la digitalización completa sigue siendo minoritaria, el almacenamiento es un desafío y el uso de inteligencia artificial se encuentra restringido a casos puntuales. El coste inicial y la falta de regulación del teletrabajo también dificultan su consolidación. Para avanzar, es clave preguntarse si se está invirtiendo en infraestructuras sostenibles, si puede mejorarse la interoperabilidad, y cómo ampliar el uso de IA y regular el trabajo remoto para consolidar una patología digital eficaz, segura y completamente adoptada en el sistema sanitario español.

**Agradecimiento a los participantes**

Adela Saco Álvarez, Hospital Clínic, Barcelona. Alejandra Canon Galusso, Hospital Universitario Del Vinalopó Elche, Alicante. Alejandro José Martínez Torrano, Virgen Del Castillo, Yecla. Alicia Córdoba Iturriagagoitia, Hospital Universitario de Navarra, Pamplona. Ana Calatrava Fons, Fundación Instituto Valenciano de Oncología, Valencia. Ana Pérez Zunino, Hospital Universitario de Badajoz, Badajoz. Araceli Ronquillo Rubio, Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses, Sevilla. César Chappuis de Oliveira, Clilab Diagnòstics, Sant Pere de Ribes. Cristina Alenda González, Hospital General Universitario Dr. Balmis, Alicante. Cristina Díez, Hospital Universitario Príncipe de Asturias, Alcalá de Henares. David Fernandes Ribeiro, Hospital de Montilla y Puente Genil, Montilla. Eduardo Salido Ruiz, Hospital Universitario de Canarias, la laguna, Tenerife. Eduardo León Lezcano, San Rafael, Cádiz. Elisabet Campos Vidal, Atryshealth Provença, Barcelona. Enrique de Álava Casado, Hospital Universitario Virgen Del Rocío, Sevilla. Enrique Martínez Barba, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia. Esther Roselló Sastre, Consorci Hospital General de Valencia, Valencia. Estibaliz Ortiz Barredo, Hospital Santiago Apostol, Miranda de Ebro. Federico Rojo, Fundación Jiménez Diaz, Madrid. Francesc Tresserra Casas, Hospital Universitari Dexeus, Barcelona. Francisco Domínguez Iglesias, Hospital Universitario de Cabueñes, Gijón. Idaira Jael Expósito Afonso, Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria, Santa Cruz de Tenerife. Irene Carretero, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid. Javier Luis López Hidalgo, Hospitales Universitarios Clínico San Cecilio y Virgen de las Nieves, Hospital de Baza y Hospital de Motril, Granada. Jiménez Martín Juan, Hospital de Antequera, Antequera. Jiménez Sánchez Ana Isabel, Hospital Arnau de Vilanova Valencia, Valencia. Joan Carles Ferreres Piñas, Parc Taulí Hospital Universitari, Sabadell. Xavier Matias-Guiu Guia, Hospital Arnau de Vilanova de Lleida, Lleida. August Vidal Bel, Hospital Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat. Maria Rosa Ortiz Duran, Hospital Doctor Trueta, Girona. Pedro Luis Fernández Ruiz, Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona. Maria Salomé Martínez González, Hospital Joan XXIII Tarragona, Tarragona. Ramon Bosch Princep, Hospital Verge de la Cinta Tortosa, Tortosa. Jordi Temprana Salvador, Vall Hebrón University Hospital, Barcelona. Jorge Palomar Ramos, Infanta Sofía, San Sebastián de Los Reyes. José Ignacio Busteros Moraza, Hospital Universitario Príncipe de Asturias, Alcalá de Henares. José Luis Rodríguez Peralto, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid. Juan José Ríos Martín, Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla. Juan Ruiz Martín, Hospital Universitario de Toledo, Toledo. Lucia Alejandra Reina Licona, Complejo Hospitalario Universitario de Albacete, Albacete. Luis Alfaro Ferreres, Vithas 9 de Octubre, Valencia. Mª Luisa Cagigal Cobo, HU Marqués de Valdecilla, Santander. Manuel Medina Pérez, Hospital de la Merced, Osuna. María Ángeles Torres Nieto, Hospital Universitario Rio Hortega, Valladolid. María de Los Milagros Lewkowicz Torres, Hospital Virgen de Altagracia, Manzanares. María José Cardiel, Hospital Clínico, Zaragoza. Maria Teresa Fernández Figueras, Hospital Universitari General de Catalunya, San Cugat del Vallés. Marta Jiménez Campillo, Hospital Universitario de la Palma, Breña Alta, la Palma. Marta María Cuadrado Rosón, Hospital Sierrallana, Torrelavega. Miguel Sánchez, Chuimi, las Palmas de GC. Noemí García Miralles, Hospital Universitario el Escorial, San Lorenzo de El Escorial. Rafael Lázaro Santander, Hospital General Universitario de Castellón, Castellón. Rosario Granados Carreño, Hospital Universitario de Getafe, Getafe. Silvia Tena Solsona, Vithas, Castellón.

# Recomendaciones del Grupo de Trabajo de Patología Endocrina de la SEAP

# Actualización en patología paratiroidea

**Carmela Iglesias Felip [1], Ignacio Ruz Caracuel [2], Severino Rey Nodar [3], Maria Teresa Rodrigo Calvo [4], Hernán Darío Quiceno Arias [5], Inmaculada Pagán Muñoz [6], José Manuel Cameselle-Teijeiro [7]**

1. *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona*
2. *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid*
3. *Servicio de Anatomía Patológica, Hospitales HM, Hospital Puerta del Sur, Madrid*
4. *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínic de Barcelona*
5. *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid*
6. *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital General Universitario Reina Sofía, Murcia*
7. *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínico Universitario, Universidad de Santiago de Compostela*

## INFORMACIÓN CLÍNICA IMPRESCINDIBLE PARA EL DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO EN PATOLOGIA PARATIROIDEA. ESTUDIO MACROSCÓPICO DE LA GLÁNDULA PARATIROIDES

Las glándulas paratiroides (GP) se localizan en el cuello próximas a la glándula tiroides. De forma general, se acepta que hay dos GP superiores y dos GP inferiores. No obstante, se han descrito GP supernumerarias y en posiciones aberrantes que pueden ir desde la mandíbula hasta el mediastino y no es infrecuente la presencia de GP intratiroideas e intratímicas.

Podemos identificar tres contextos en los que se realiza un abordaje quirúrgico dirigido a la GP:

- En el contexto de un hiperparatiroidismo (HP), para extirpar el/los nódulo/s responsables de la secreción de parathormona (PTH).
- En el contexto de una cirugía cervical, generalmente una tiroidectomía, cuando de forma incidental se identifica una GP y se quiere preservar o reimplantar.
- En el contexto de una cirugía oncológica de una lesión presumiblemente primaria de la GP

Los dos primeros contextos son los más frecuentes y en ellos el estudio histopatológico de la GP se inicia generalmente con un análisis intraoperatorio para confirmar que el cirujano ha resecado tejido paratiroideo. En el momento del estudio intraoperatorio y del tallado de la pieza es fundamental medir y pesar la pieza. Dado el tamaño de los especímenes, se recomienda que el tamaño se exprese en milímetros y que la báscula pueda medir miligramos (1). Se recomienda diseccionar el tejido adiposo circundante antes de pesar la lesión; no obstante, debe prestarse especial cautela en especímenes homogéneamente amarillentos porque puede tratarse de lesiones paratiroideas con abundante involución adiposa, en ocasiones llamadas lipoadenomas (2).

La información clínica imprescindible para el diagnóstico histológico sería (3):

- Localización de la lesión
- Tipo de espécimen: biopsia o resección de un nódulo
- Tipo de HP: primario (HPP), secundario o terciario
- Número total de lesiones resecadas
- Si el paciente ha sido intervenido previamente de la GP o tiroides
- Historia familiar relevante

- Presencia de un síndrome clínico

En el estudio macroscópico la GP tiene una coloración marronácea-rojiza carnosa y suele tener una superficie lisa. No obstante, en ocasiones la coloración puede ser más amarillenta si tiene abundante componente adiposo. La textura, la coloración e incluso la presencia de coloide al corte pueden ser útiles para sospechar un diagnóstico alternativo a una GP en el momento de la evaluación intraoperatoria. Como se ha detallado anteriormente, es fundamental medir el diámetro y pesar la lesión. Una GP normal tiene un tamaño de 4-6 mm y un peso aproximado de 40 mg (3).

Los especímenes de lesiones sospechosas de malignidad pueden incluir estructuras adyacentes como un lóbulo tiroideo, partes blandas o fragmentos de músculo esquelético. Si existe sospecha de malignidad no se recomienda la disección del tejido adiposo adyacente para pesar la lesión. En estas piezas se pueden marcar los márgenes con tinta para facilitar la valoración de los márgenes de resección quirúrgicos. Además, en el momento de incluir la lesión se tiene que prestar especial cuidado a la relación del nódulo paratiroideo con las estructuras adyacentes.

## NEOPLASIAS MULTIGLANDULARES: NUEVA PERSPECTIVA Y TERMINOLOGÍA

La neoplasia endocrina múltiple (MEN) es un grupo raro de trastornos autosómicos dominantes con un amplio espectro de manifestaciones endocrinas y no endocrinas. Hasta la fecha se han descrito cinco tipos diferentes de MEN: MEN1, MEN2A, MEN2B (anteriormente MEN3), el recientemente identificado MEN4 y MEN5 (Tabla 1). La expresión fenotípica es heterogénea, lo que da lugar a diferentes manifestaciones incluso en miembros de una misma familia.

**Tabla 1.** Síndromes genéticos con neoplasia endocrina múltiple (MEN tipos 1-5)*

| | MEN1 | MEN2 | | MEN4 | MEN5 |
|---|---|---|---|---|---|
| **Terminología relacionada** | Síndrome Wermer | MEN2A, síndrome Sipple | MEN2B (previamente MEN3), síndrome de Gorlin/síndrome de Wagenmann-Froboese | - | Tumores asociados a MAX |
| **OMIN** | 131100 | 171400 | 162300 | 610755 | - |
| **Gen** | MEN1 | *RET* | *RET* | CDKN1B | MAX |
| **Localización** | 11q13.1 | 10q11.21 | 10q11.21 | 12p13.1 | 14q23.3 |
| **Herencia** | Autosómica dominante | Autosómica dominante | Autosómica dominante | Autosómica dominante | Autosómica dominante |
| **Proteína codificada** | Menina | *RET* | *RET* | p27 | MAX |
| **Tumor principal y prevalencia (%)** | Enfermedad paratiroidea multiglandular (HPP) (85 %) | CMT (95 %) | CMT (95-100 %) | HPP (75 %) | Feocromocitoma |
| **Manifestaciones adicionales más comunes** | PanNETs: gastrinoma, insulinoma (30-80 %)<br>Adenomas hipofisarios/PitNETs (30-50 %) | CMTF**<br>Feocromocitoma (50 %)<br>Enfermedad paratiroidea (HPP) (20-30 %)<br>Enfermedad de Hirschprung (1,5 %) | Feocromocitoma (50 %)<br>Ganglioneuromatosis oral-intestinal (40 %)<br>Hábito marfanoide (75 %)<br>Enfermedad paratiroidea (HPP) (<1 %) | Adenomas hipofisarios/PitNET (44 %)<br>NETs gastroentero-pancreáticos y pulmonares<br>Carcinoma papilar tiroides<br>Tumores suprarrenales | Paragangliomas<br>Adenomas hipofisarios/PitNETs<br>Enfermedad paratiroidea multiglandular (HPP)<br>Ganglioneurona<br>Neuroblastoma<br>Carcinomas y oncocitomas renales |

*Adaptado a partir de (4) y (5).

**CMTF, el carcinoma medular de tiroides familiar aislado se considera actualmente una variante de MEN2A.

Abreviaturas: OMIM, online mendelian inheritance in man (catálogo en línea de genes humanos y trastornos genéticos); MEN1, menin 1; *RET*, protooncogén ret; CDKN1B, inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina 1B; MAX, factor X asociado a MYC; HPP, hiperparatiroidismo primario; NETs, tumores neuroendocrinos; PanNETs, tumores neuroendocrinos pancreáticos; CMT, carcinoma medular de tiroides; CMTF, carcinoma medular de tiroides familiar.

**MEN1**. Fue la primera forma descrita. Se trata de un síndrome tumoral hereditario poco frecuente que es el resultado de mutaciones constitucionales en el gen *MEN1*, que codifica una proteína ubicua, la menina, de 610 aminoácidos de longitud. El análisis genético es concluyente en el 90 % de los pacientes con un fenotipo típico, pero es negativo en alrededor del 10 % de las familias con MEN1. La presentación clínica inicial de los síntomas suele producirse entre los 20 y los 30 años de edad. Sin embargo, en muchos casos el diagnóstico de MEN1 puede no confirmarse hasta años después de la aparición de los síntomas. La Tabla 1 recoge las manifestaciones clínicas más frecuentes de este síndrome (6). Con menor frecuencia pueden aparecer NETs broncopulmonares y tímicos, tumores adrenocorticales, feocromocitomas, angiofibromas faciales, colagenomas, lipomas, leiomiomas, tumores craneales (p. ej., meningiomas, ependimomas), hibernomas y cáncer de mama (6). Los lipomas, angiofibromas y colagenomas pueden aparecer en la infancia.

Se han descrito dos tipos de pacientes con MEN1, los pacientes con mutaciones del gen *MEN1* y los pacientes negativos para dicha mutación pero que tienen dos o más manifestaciones del síndrome y que suelen presentarse a mayor edad (4,6). Algunas mutaciones del gen *MEN1* parecen asociadas a mayor riesgo de mortalidad (7). Los tumores hipofisarios pueden ser la primera manifestación del síndrome y son indistinguibles de su contraparte esporádica (8). La enfermedad paratiroidea en el MEN1 suele afectar a múltiples GP (enfermedad paratiroidea multiglandular), pero puede ser asimétrica y producirse de forma asincrónica. Al microscopio se observan proliferaciones multinodulares compuestas principalmente por células principales, seguidas de células oncocíticas y/o claras (6).

Las personas portadoras de mutaciones en *MEN1* deben ser evaluadas periódicamente mediante anamnesis y exploración física y mediciones de las concentraciones séricas de calcio, gastrina y prolactina. Detectar el MEN1 en sus primeras fases es importante porque el tratamiento precoz es más eficaz y seguro que el tratamiento de la enfermedad avanzada (8).

**MEN2**. La neoplasia endocrina múltiple tipo 2 (MEN2) es un síndrome causado por mutaciones activadoras en el protooncogén *RET*, que codifica un receptor de tirosina quinasa. El síndrome MEN2 incluye típicamente a los síndromes MEN2A, MEN2B y al carcinoma tiroideo medular familiar aislado (CMTF aislado) (6) (Tabla 1). El síndrome MEN2A incluye el CMT, a menudo asociado con feocromocitoma y/o proliferaciones paratiroideas. El síndrome MEN2B, originalmente llamado síndrome MEN3, es una variante más rara caracterizada por un CMT de inicio temprano y más agresivo (8,9). El CMTF aislado se presenta en algunas familias como único tumor y en la actualidad es reconocido como una variante de MEN2A por la Asociación Estadounidense de Tiroides (ATA) (10). Otras variantes son el MEN2A con amiloidosis cutánea y el MEN2A con enfermedad de Hirschsprung (6).

Debido a que el CMT se produce en casi todos los individuos portadores de una mutación en *RET* y a que aparece a una edad temprana, en todos los pacientes con CMT se deberían explorar posibles mutaciones en este gen. Si se identifican, debería realizarse el estudio mutacional a todos los miembros de la familia e indicar una tiroidectomía total profiláctica a los portadores de la mutación (4,9). Las diversas mutaciones de *RET* confieren diferentes perfiles de riesgo, siendo la mutación M918T MEN2B la que conlleva el riesgo más alto. El perfil de riesgo ha dado lugar a recomendaciones de tiroidectomía profiláctica precoz según la mutación. En portadores de la mutación es frecuente detectar hiperplasia de células C o pequeños CMT (6).

**MEN4**. El síndrome MEN4 es un síndrome tumoral causado por mutaciones germinales heterocigotas inactivadoras en el gen *CDKN1B*. (Tabla 1). Los pacientes con este síndrome presentan un fenotipo muy similar al MEN1, ya que estos pacientes desarrollan tumores en GP, hipófisis y páncreas (6). La incidencia de las variantes de *CDKN1B* en pacientes con un fenotipo relacionado con MEN1 es

difícil de estimar, pero es probable que se sitúe entre el 1,5 % y el 3,7 % de los casos. Estos pacientes tienen una clínica similar a los del MEN1, pero con pruebas genéticas de MEN1 negativas.

Los hallazgos patológicos no son diferentes de los de los tumores esporádicos. El HP es el síntoma más frecuente (75 % de los pacientes); la enfermedad uniglandular es frecuente y no hay recaída tras la paratiroidectomía (4). El HP se presenta a una edad más tardía en MEN4 que en MEN1 (edad media 56 años *versus* 25 años, respectivamente), con predominio femenino. No se han descrito casos de recurrencia del HPP tras la resección quirúrgica, lo que podría indicar que el HPP en el MEN4 representa un espectro de la enfermedad globalmente más leve que en el MEN1. La afectación hipofisaria en el síndrome MEN4 constituye la segunda manifestación más frecuente de la enfermedad (37 %). Los tumores hipofisarios en MEN4 incluyen adenomas/PitNETs no funcionales, así como adenomas/PitNETs somatotropos, prolactinomas y corticotropos. La edad al momento del diagnóstico de estas lesiones también muestra un rango considerable, desde los 30 hasta los 79 años. El caso más joven diagnosticado con MEN4 correspondió a un paciente de 30 años que presentó acromegalia. Hasta la fecha se han reportado menos de 50 casos en la literatura médica (5). Para confirmar el síndrome MEN4 se recomienda realizar pruebas genéticas en los pacientes con fenotipo MEN1 pero que son negativos para la mutación del gen *MEN1*.

**MEN5**. Se trata de un síndrome causado por variantes patogénicas en la línea germinal del gen supresor de tumores del factor X (*MAX*) asociado a *MYC* (6). Este gen codifica la proteína *MAX*, que es un componente de la red de factores de transcripción *MYC/MAX/MXD1* implicada en proliferación, diferenciación y apoptosis (11). El MEN5 se manifiesta con neoplasias endocrinas multifocales en las glándulas suprarrenales, hipófisis, páncreas y GP (12). Las mutaciones de *MAX* también se asocian al síndrome de feocromocitoma-paraganglioma hereditario y en menor frecuencia con ganglioneuromas, neuroblastomas y tumores compuestos (Tabla 1). Además, se han descrito tumores en órganos no endocrinos, incluidos carcinomas de células renales y oncocitomas, carcinomas escamosos y carcinomas de mama, pulmón y endometrio.

Los tumores asociados a *MAX* suelen ser múltiples, bilaterales y/o multicéntricos, pero son indistinguibles de sus homólogos esporádicos (6). Los pacientes desarrollan feocromocitomas, que suelen ser bilaterales y pueden presentar lesiones múltiples dentro de una glándula; estos tienen tendencia a ser más agresivos y muestran mayor potencial para metastatizar. Por el contrario, la hiperplasia medular adrenal es menos frecuente que en los síndromes MEN2 y paraganglioma-feocromocitoma deficiente de SDH. Al igual que en el síndrome MEN1 el HP suele ser multiglandular. Los PitNETs (prolactinomas o somatotropos) suelen aparecer después del feocromocitoma. A diferencia del MEN2, no se ha descrito CMT ni hiperplasia de células C.

## HIPERPLASIA PARATIROIDEA Y ENFERMEDAD PARATIROIDEA MULTIGLANDULAR

La clasificación de la OMS de 2022 de los tumores paratiroideos reconoce la enfermedad paratiroidea multiglandular asociada al HPP como una neoplasia paratiroidea multiglandular causada por susceptibilidad germinal (6). En este contexto, se recomienda realizar un cribado genético en individuos afectados.

En el HPP la afectación multiglandular, previamente entendida como una respuesta hiperplásica reactiva, podría ser consecuencia de mutaciones somáticas o predisposición genética. Por esta razón, términos como «enfermedad paratiroidea multiglandular» o «adenomas paratiroideos (AP) múltiples» resultan más apropiados para describir esta condición, reemplazando el concepto histórico de «hiperplasia paratiroidea». Hasta el 15 % de las personas con HPP presentan enfermedad multiglandular, caracterizada por la presencia de dos o más AP con un patrón de crecimiento sólido predominante y un aumento de tamaño y peso de las GP afectadas. Las GP superiores son las más frecuentemente afectadas en comparación con las inferiores. La enfermedad multiglandular, junto con factores como el sexo masculino, la edad inferior a 45 años y la presencia de malignidad, se asocia con el HP hereditario. Ante estos indicadores se recomienda realizar pruebas genéticas, considerando los hallazgos morfológicos, moleculares e inmunohistoquímicos (5,13).

El concepto clásico de hiperplasia paratiroidea se basaba en el agrandamiento simultáneo y simétrico de las cuatro GP, como ocurre en síndromes hereditarios como el MEN1, MEN4 y MEN5 (5,13). Sin embargo, esta visión ha sido cuestionada por estudios moleculares recientes, los cuales han identificado patrones clonales en tejidos previamente considerados hiperplásicos. Estos datos indican que se trata de procesos neoplásicos y no de un crecimiento reactivo.

Actualmente, el término «hiperplasia» se utiliza exclusivamente para referirse a las lesiones paratiroideas múltiples que se desarrollan de manera secundaria en respuesta a estímulos crónicos que afectan la secreción de PTH, como la insuficiencia renal crónica o el uso de litio. Desde el punto de vista histológico, las GP presentan un agrandamiento significativo con pérdida del tejido adiposo y una alta densidad celular. Por lo general, no se identifica el anillo periférico residual de tejido sano que con frecuencia se detecta en el AP (13).

La nueva clasificación de la OMS 2022 (6) recomienda dejar de utilizar el término «hiperplasia» para las lesiones multiglandulares en el HPP. Los estudios moleculares demostraron que las GP afectadas suelen estar compuestas por múltiples proliferaciones neoplásicas clonales sincrónicas o metacrónicas, cuyo ejemplo prototípico es la afectación paratiroidea múltiple en el MEN. La OMS recomienda la utilización de los términos «enfermedad paratiroidea multiglandular» o «AP multiglandular». Histológicamente, se trata de múltiples AP coalescentes, de aspecto idéntico a la hiperplasia paratiroidea (aumento de peso y tamaño, así como de la proporción de células paratiroideas en relación con los adipocitos). La enfermedad paratiroidea multiglandular es considerada una neoplasia multiglandular potencialmente relacionada con una susceptibilidad genética de la línea germinal, y debe dar lugar a la realización de pruebas genéticas (14).

## TUMOR PARATIROIDEO ATÍPICO

El tumor paratiroideo atípico (TPA) es una neoplasia que presenta características citológicas y arquitectónicas atípicas, pero sin evidencia inequívoca de invasión capsular, vascular o perineural ni metástasis. La nueva edición de la OMS (6) acepta también los términos de neoplasia paratiroidea atípica o de tumor paratiroideo de potencial maligno bajo o incierto para referirse al TPA, pero no se recomienda la designación de AP atípico.

El TPA tiene una incidencia del 0,5 al 4,4 % (15) y aunque suele ser esporádico, también puede aparecer en el contexto de síndromes hereditarios (6). Los casos esporádicos son más frecuentes en mujeres con una edad media de 48 años (rango 16-80 años), mientras que los TPA familiares se presentan con igual frecuencia en ambos sexos y 20 años antes (15). Los niveles de calcio en suero suelen ser intermedios entre un AP y un carcinoma paratiroideo (CP) (6,15).

Los TPA pueden afectar cualquiera de las GP, suelen ser tumores grandes (tamaño medio de 30 mm) y están compuestos mayoritariamente por células principales con una proporción variable de células oncocíticas y transicionales (15). Histológicamente muestran características preocupantes presentes en el CP tales como la adherencia a estructuras adyacentes, actividad mitótica, atipia citológica, fibrosis (a veces en forma de bandas), patrón de crecimiento trabecular o monótono en placa y/o presencia de células en la cápsula sin atravesarla totalmente. A diferencia del CP, el TPA carece de invasión capsular completa, invasión vascular o perineural e infiltración de estructuras adyacentes (6). Un índice de mitosis elevado (>5 por 10 $mm^2$) o un índice de Ki67 >5 %, necrosis tumoral, macronucléolos y mitosis atípicas son indicios sugestivos de malignidad, pero para diagnosticar CP es necesario evidenciar crecimiento invasivo o metástasis (6,15). Los AP pueden mostrar fibrosis, especialmente cuando han sido manipulados (por ejemplo, tras una biopsia con aguja fina), pero la presencia de fibrosis no es suficiente para clasificar una neoplasia como TPA. La asociación de fibrosis con necrosis grasa y depósitos de hemosiderina suele indicar cambios regenerativos tras una punción (16).

En el estudio inmunohistoquímico los TPA son positivos para PTH, cromogranina-A y GATA3. Se han estudiado varios biomarcadores aislados y combinados, tales como Ki67, PGP9.5, ciclina D1, p27, P53, galectina 3, *RB1*, Bcl-2, mdm2 y E-cadherina, pero ninguno de estos puede diferenciar de manera

consistente entre CP y AP (17–20). Los biomarcadores más útiles son Ki67 y parafibromina (PFM) (17,18,20).

La PFM está codificada por el gen *CDC73* («*cell division cycle 73*»). La falta de tinción nuclear para PFM en presencia de un control interno positivo (por ejemplo, el endotelio) se denomina *deficiencia de PFM*, indica inactivación bialélica de *CDC73* y se asocia a una mutación de la línea germinal (21). Por ello, en los TPA con deficiencia de PFM se recomienda realizar pruebas para excluir mutaciones germinales en *CDC73* (22). Además, debido a la asociación de las mutaciones somáticas del gen *CDC73* con el CP esporádico y el mayor riesgo de CP y tumores metacrónicos en individuos con mutación de la línea germinal de *CDC73*, se recomienda un seguimiento a largo plazo en todos los tumores con deficiencia de PFM (22,23).

La OMS (6) hace referencia a la octava edición del sistema de estadificación del AJCC y clasifica al TPA como «Tis».

El TPA se considera una neoplasia paratiroidea de potencial maligno incierto. Aunque se han publicado metástasis, la mayoría no recurre tras la extirpación. El seguimiento clínico y bioquímico está indicado especialmente en los casos con deficiencia de PFM por el riesgo de enfermedad metacrónica en otras GP o incluso de verdadera recurrencia (3,6,15).

## CARCINOMA DE PARATIROIDES

El CP es una neoplasia maligna que se origina en las células parenquimatosas paratiroideas. El CP representa <1 % de los casos de HPP. Aunque en la nueva clasificación de la OMS no se modifican los criterios diagnósticos, se define más claramente lo que se considera crecimiento invasivo (6).

La mayoría de los CP son esporádicos. Se ha descrito la asociación del CP con radiación ionizante previa en cabeza y cuello (24). Los casos no esporádicos incluyen síndromes de HP familiar, principalmente el síndrome de hiperparatiroidismo-tumor mandibular (HPT-JT), así como formas raras de HP familiar aislado (6). El síndrome de HPT-JT es un trastorno autosómico dominante causado por variantes patogénicas o deleciones en la línea germinal del gen *CDC73* (22,25). *CDC73* codifica una proteína supresora tumoral nuclear con propiedades antiproliferativas y proapoptóticas, de manera que el 10-15 % de los pacientes con HPT-JT desarrollará un CP (22). Además, el 40-80 % de los CP esporádicos presentan mutaciones inactivadoras en *CDC73* además de una pérdida frecuente de heterocigosidad del locus *CDC73* (6,26). Las mutaciones en *CDC73* son con frecuencia en línea germinal, indicativas de mutaciones de novo o de un síndrome de HPT-JT no detectado (27). La mayoría de las mutaciones de *CDC73* en CP son alteraciones truncadas o de cambio de marco de lectura o bien mutaciones sin sentido en regiones conservadas, y en los casos con mutaciones de *CDC73* se observa pérdida de inmunorreactividad de la PFM («tumor deficiente en PFM») (6,23). Hay también mutaciones de *CDC73* que se traducen exclusivamente en pérdida de la tinción nucleolar de PFM (6,28). Por todo ello, la determinación inmunohistoquímica de PFM es un importante marcador en relación con malignidad y con el síndrome de HPT-JT. Además, los CP con mutación de *CDC73* tienen un peor pronóstico (29). Otras alteraciones moleculares descritas en el CP incluyen pérdidas alélicas en *TP53* y *RB1*, amplificaciones de *CCND1* y mutaciones del promotor de *TERT* y de *DICER1* (6,30–32).

La mayoría de los pacientes con CP presentan síntomas de HPP, incluyendo manifestaciones óseas (osteoporosis o fracturas), manifestaciones renales (nefrolitiasis o nefrocalcinosis), debilidad, fatiga, pérdida de peso, ansiedad, náuseas, poliuria, polidipsia o pancreatitis (6,33). No obstante, en series clínicas hasta un 3 % de los CP son bioquímicamente no funcionantes (34). Los siguientes datos deben alertar de la posible existencia de un CP (6,33,35):

- HP grave asociado a masa palpable (generalmente mayor de 3 cm)
- Hipercalcemia grave, con niveles de >3mmol/L, >12mg/dl o 3-4 mg por encima del límite superior de la normalidad

- Niveles de PTH muy aumentados (valores mayores a 3 veces el límite superior de la normalidad, con frecuencia mayores a 10 veces)
- Relación PTH de tercera/segunda generación >1
- Adherencia a estructuras adyacentes observada durante la intervención quirúrgica
- Datos de imagen (ecografía o TC) sugestivos de tumor infiltrante o metástasis

La apariencia macroscópica del CP es muy variable, pero suelen ser tumores grandes (diámetro medio de 30-50 mm), firmes y mal circunscritos y cuyo peso puede superar los 50 g (6,36). Suelen estar adheridos a la glándula tiroides u otras estructuras adyacentes. Al corte suelen mostrar un aspecto lobulado como consecuencia de la presencia de bandas de fibrosis. Los tumores más pequeños pueden ser indistinguibles macroscópicamente de un AP.

El diagnóstico del CP se restringe a las neoplasias de paratiroides que muestren una o más de las siguientes características (6):

- Invasión vascular
- Invasión linfática
- Invasión peri o intraneural
- Infiltración de estructuras u órganos adyacentes
- Metástasis regionales o a distancia confirmadas citológica o histológicamente

Como se ha comentado anteriormente, para valorar de forma rigurosa la presencia de invasión es preciso estudiar la totalidad de la neoplasia. Los órganos endocrinos presentan característicamente vasos con endotelio fenestrado, por lo que -al igual que en otras neoplasias endocrinas- la angioinvasión debe evaluarse en la periferia del tumor o en la cápsula, pero no intratumoral. La angioinvasión se define o bien por la presencia de células tumorales que invaden a través de la pared de un vaso con trombo asociado o bien como células tumorales intravasculares mezcladas con un trombo o fibrina. La tinción de CD31 puede ayudar a visualizar mejor un vaso dudoso, y cuando el trombo es sutil el complejo fibrina-plaquetas puede marcarse con CD61 o mediante la tinción Martius Scarlet blue. La invasión linfática puede confirmarse con D2-40. La invasión perineural verdadera requiere al menos de la afectación del epineuro y es frecuentemente un hallazgo microscópico, aunque también puede ocurrir invasión macroscópica de grandes nervios como por ejemplo el nervio recurrente laríngeo. La mayoría de los CP carecen de una cápsula fibrosa verdadera, pero suelen mostrar gruesas bandas de tejido conectivo denso desde la pseudocápsula peritumoral (6). No obstante, la presencia de estas bandas de fibrosis no es un criterio de malignidad (16,37). La extensión focal de tejido paratiroideo hacia el tejido conectivo que recubre el borde externo de la lesión no se considera maligna. Esto último puede ocurrir en GP sometidas a manipulación previa (PAAF, lavado de PTH o inyección de etanol), así como en GP de pacientes con HP secundario/terciario de larga evolución (16,36). Con relativa frecuencia las GP superiores están incrustadas en la pseudocápsula o parénquima tiroideo y esto no debe confundirse con un crecimiento invasivo (36,37). La atipia citológica es muy variable, mientras que algunos CP muestran marcado pleomorfismo otros solo se distinguen de los AP por su crecimiento invasivo (6). Aunque el índice mitótico aumentado no es un criterio diagnóstico de CP, representa un signo de alerta. La presencia en una neoplasia paratiroidea de necrosis coagulativa, actividad mitótica aumentada (>5 mitosis/10 $mm^2$) y macronucléolos debe hacer sospechar malignidad (38), siendo recomendable utilizar biomarcadores complementarios y realizar múltiples secciones tumorales que puedan ayudarnos a identificar invasión. Tanto el contaje mitótico como el índice de Ki67 deben realizarse de forma estandarizada, de forma similar a otras neoplasias neuroendocrinas (3). Los CP con mutación de *CDC73* suelen ser grandes y encapsulados y estar formados por células oncocíticas con aclaramiento perinuclear (22), patrón de crecimiento difuso, agrandamiento nuclear, vascularización ramificada, cambio microquístico y elevada proliferación (>5 mitosis por 10 $mm^2$) (22,23).

En comparación con los AP, los CP se asocian con pérdida de expresión inmunohistoquímica de PFM, APC, E-cadherina, p27, Bcl-2a, mdm-2 y 5-hmC y con positividad para PGP9.5, galectina 3, hTERT y sobreexpresión de p53 junto con un índice de Ki67 aumentado (con frecuencia >5 %) (6). Aunque la pérdida de la expresión de PFM es más frecuente en los CP, se puede observar en cualquier tumor

paratiroideo, benigno o maligno, dentro del síndrome de HPT-JT (22). Se ha propuesto, además, un umbral más bajo para el crecimiento invasivo en tumores paratiroideos con deficiencia de PFM (22). También se ha observado pérdida de expresión nucleolar de PFM en CP (23,39). En ambos casos la pérdida de expresión de PFM indica una posible mutación germinal de *CDC73*. En la evaluación inmunohistoquímica de las lesiones paratiroideas sospechosas de malignidad es deseable combinar al menos los siguientes marcadores: Ki67, PFM y galectina 3 (6).

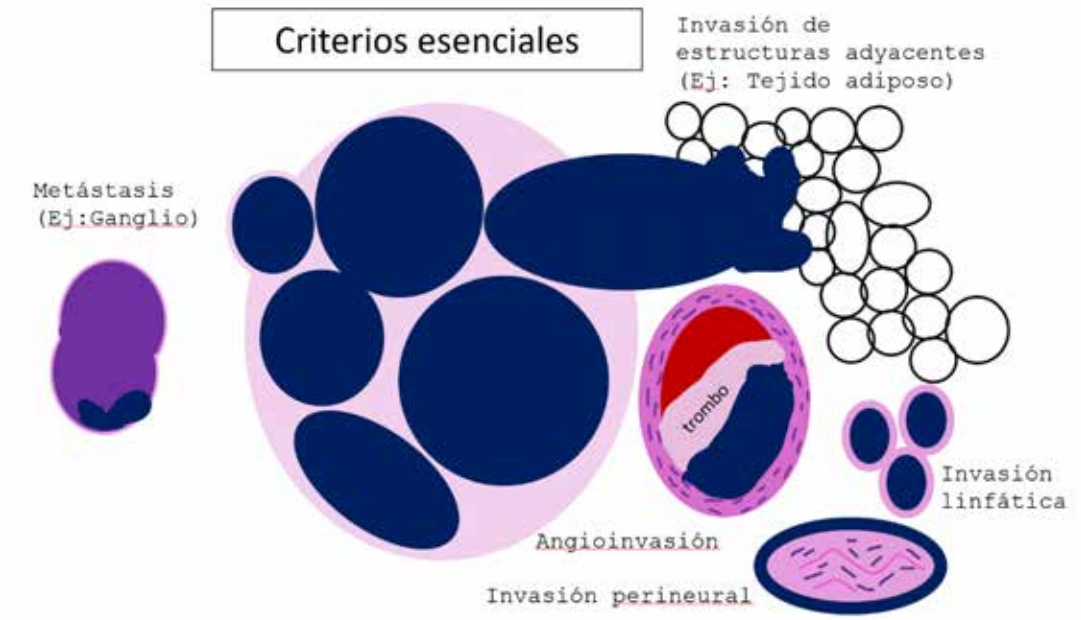
El diagnóstico diferencial del CP incluye principalmente las siguientes entidades:

- TPA: cuando hay características citológicas y arquitecturales atípicas, aunque sin invasión capsular, vascular o perineural, infiltración de estructuras adyacentes o metástasis
- Paratiromatosis: definida por la presencia de focos microscópicos de tejido paratiroideo en el sitio de una cirugía o biopsia previa o por implantación de tejido paratiroideo, cuando es localmente infiltrante puede ser indistinguible del CP excepto por la invasión vascular o perineural
- Proliferación paratiroidea benigna (AP o hiperplasia) con características histológicas preocupantes tras una PAAF o inyección de etanol
- HP secundario o terciario de larga evolución, asociado a GP grandes o irregulares que pueden simular invasión. Se debe ser cauto antes de diagnosticar un CP en el contexto de insuficiencia renal crónica avanzada
- Otros: carcinoma tiroideo de arquitectura folicular, CMT o neoplasias mesenquimales

En la nueva clasificación de la OMS se recogen los criterios diagnósticos esenciales y deseables para el diagnóstico de CP (Figura 1) (6). Para el diagnóstico de malignidad se requiere la presencia de al menos una de las siguientes características: angioinvasión, invasión linfática, invasión perineural, invasión local de estructuras u órganos adyacentes y/o metástasis confirmadas histológicamente. Se consideran criterios deseables la realización de biomarcadores auxiliares que incluyan Ki67, PFM y galectina 3 así como la genotipificación de línea germinal y somática.

Se consideran factores de interés pronóstico la edad avanzada, el tamaño del tumor (>32 mm), la resección incompleta, los hallazgos clinicopatológicos de alto riesgo (angioinvasión, invasión macroscópica local en los órganos del cuello, metástasis ganglionares y a distancia), la pérdida de la expresión de PFM y la positividad de galectina 3 (6). La recurrencia y/o las metástasis a distancia (p. ej. pulmón, hígado, hueso) ocurren en el 25-60 % de los pacientes con CP (6,20,36). Las metástasis pueden ser tardías y ocurrir hasta 10 años tras el diagnóstico (33). En una serie del MD Anderson Cancer Center (33), la incidencia acumulada de metástasis a 20 años fue de alrededor del 40 %.

**Figura 1.** Resumen gráfico de los criterios diagnósticos del CP




**Criterios deseables**

| Inmunohistoquímica que incluya | Genotipificación |
|---|---|
| Ki67 | CDC73 |
| Parafibromina | |
| Galectina3 | |

## CONCEPTO DE NEOPLASIA PARATIROIDEA DEFICIENTE EN PARAFIBROMINA

La PFM es una proteína codificada por el gen *CDC73* que se localiza predominantemente en el núcleo, donde desempeña múltiple función como supresora tumoral. En caso de mutación se estimula la progresión del ciclo celular y se reduce la apoptosis celular, favoreciendo así la carcinogénesis.

La nueva clasificación de la OMS 2022 ha expandido en patología paratiroidea el concepto previo de «deficiencia de PFM», incorporando el término de «neoplasia paratiroidea deficiente en PFM»(6). Este término se aplica a todas aquellas neoplasias paratiroideas (AP, TPA o CP) que muestren pérdida completa de inmunotinción nuclear para este marcador. La pérdida de expresión exclusivamente nucleolar se considera también anómala y se aconseja explorar una posible alteración molecular asociada que confirme su significado biológico. Puesto que el gen *CDC73* es el que codifica para la proteína PFM, la pérdida de tinción nuclear completa traduce secundariamente la inactivación bialélica de este gen, habitualmente por una mutación o deleción, ya sea germinal (con mayor frecuencia) o somática. No obstante, la expresión inmunohistoquímica mantenida no permite excluir en ocasiones una mutación génica puntual. Para la interpretación del resultado inmunohistoquímico es importante conocer que fibroblastos y células endoteliales constituyen un control interno positivo adecuado, asegurando así un resultado valorable. Pese a ello, y en caso de mutación germinal, algunos autores han reportado pérdida o disminución de la expresión en dichas células control. La clasificación de la OMS (6) aconseja la realización del estudio inmunohistoquímico de PFM a todos los TPA y CP, y en el caso de los AP solo en circunstancias determinadas, como por ejemplo en pacientes jóvenes con tumores múltiples.

Así pues, y dado que una neoplasia deficiente en PFM sugiere una posible mutación -germinal o somática- en *CDC73*, es aconsejable ante esta situación la realización de un test germinal. En el contexto de un tumor paratiroideo deficiente en PFM son más probables tanto la enfermedad metacrónica como las recurrencias, por lo que se aconseja un seguimiento clínico a largo plazo.

Excepto en el caso de una predisposición genética subyacente, los AP retienen por lo general la positividad para la PFM. De modo característico, los AP deficientes por mutación somática en *CDC73* muestran con frecuencia un componente quístico asociado. El fenotipo deficiente en PFM aumenta en los TPA, y es altamente prevalente en los CP. Para los TPA, y más allá de ser un marcador de la posible alteración germinal, el resultado inmunohistoquímico puede ser de utilidad para prever su comportamiento futuro, asumiendo un riesgo mayor de agresividad ante la pérdida de expresión de PFM. Las mutaciones somáticas del gen *CDC73* se asocian también a CP esporádico, aconsejándose el estudio germinal en todo CP (hasta el 30 % de los carcinomas aparentemente esporádicos se asociarán a inactivación germinal de *CDC73*). Los CP mutados muestran mayor carga mutacional tumoral, mayor inestabilidad genética y mayor riesgo de recurrencia que los CP no mutados (6).

Debido al papel de la PFM en la transformación maligna, es aceptable en un contexto de un tumor deficiente considerar un umbral algo menor de exigencia para los criterios histológicos de invasión tumoral.

## UTILIDAD DE LAS TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS EN PATOLOGIA PARATIROIDEA. DIAGNÓSTICO PRIMARIO Y DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL CON OTRAS NEOPLASIAS

La GP tiene un perfil inmunohistoquímico característico. Las células paratiroideas muestran positividad para PTH y el factor de transcripción GATA3 (17). Asimismo, muestran diferenciación neuroendocrina con positividad para cromogranina y variable positividad para sinaptofisina. Por contra, el factor de transcripción INSM1 es negativo (40). El estudio inmunohistoquímico permite el reconocimiento de tejido paratiroideo ectópico, así como el diagnóstico diferencial del tejido paratiroideo benigno o maligno. La Tabla 2 describe los perfiles inmunohistoquímicos de las entidades más frecuentes en el diagnóstico diferencial con una lesión paratiroidea.

**Tabla 2.** Diagnóstico diferencial de las lesiones paratiroideas

| | Cromogranina | TTF1 | PAX8 | GATA3 | Marcadores específicos |
|---|---|---|---|---|---|
| ***Nódulos primarios tiroideos o intratiroideos*** | | | | | |
| **Glándula paratiroides** | Positiva | Negativa | Negativa[2] | Positiva | PTH |
| **Nódulo folicular tiroideo** | Negativa | Positiva | Positiva | Negativa | Tiroglobulina |
| **CMT** | Positiva | Positiva | Positiva[2] | Negativa | Calcitonina |
| **Paraganglioma** | Positiva | Negativa | Negativa | Positiva | |
| ***Lesiones metastásicas*** | | | | | |
| **Tumor neuroendocrino pulmonar** | Positiva | Positiva | Negativa[2] | Negativa | |
| **Carcinoma renal de células claras** | Negativa | Negativa | Positiva | Negativa | Anhidrasa carbónica |
| **Carcinoma de mama** | Negativa | Negativa | Negativa | Positiva | |
| Hepatocarcinoma | Negativa | Negativa[1] | Negativa | Negativa | Hepatocyte paraffin 1 |

[1]Puede haber expresión aberrante citoplasmática.
[2]El porcentaje de tumores positivos varía según el clon usado.

Entre los marcadores inmunohistoquímicos que se han propuesto para diferenciar lesiones benignas con atipia del CP se encuentran: la reducción de la expresión inmunohistoquímica de PFM, p27, Bcl-2, E-cadherina, retinoblastoma; la sobreexpresión de marcadores como el PGP9.5, galectina-3,

patrón anormal (negatividad completa o sobreexpresión difusa y fuerte) de p53 (23,41–44). No obstante, es difícil establecer una recomendación robusta dado que la mayoría de los marcadores se han estudiado en series unicéntricas con cierta heterogeneidad en cuanto a los criterios de malignidad empleados. El índice de proliferación medido con Ki67 en las áreas de mayor densidad de tinción puede ser un marcador de cribado de lesiones de alto riesgo, estableciéndose un punto de corte del 5 % (14). No obstante, el valor predictivo positivo de este punto de corte es bajo ya que existen casos de AP e hiperplasia con altos índices de proliferación (45,46). La PFM puede mostrar diversos patrones aberrantes: pérdida nuclear completa (tinción en ≤10 % de las células tumorales), pérdida nuclear parcial (pérdida de la expresión entre un 11-89 % de células tumorales) o pérdida nucleolar (23). La pérdida de expresión de PFM se asocia con mutaciones en el gen *CDC73* y se ha empleado en dos escenarios: (a) para identificar individuos con un síndrome genético asociado a una mutación germinal *CDC73*, y (b) para intentar predecir tumores con mayor potencial de malignidad.

En relación con la patogénesis, la pérdida de expresión inmunohistoquímica de PFM, menina y p27 se asocia con *CDC73*, *MEN1* y *CDKN1B*, respectivamente (6).

## SÍNDROMES GENÉTICOS MÁS FRECUENTES CON AFECTACIÓN PARATIROIDEA

Desde el punto de vista del manejo clínico, es importante la distinción entre un HP hereditario frente a uno esporádico. Los síndromes de HP hereditario más importantes son fundamentalmente el síndrome HPT-JT (variantes germinales patogénicas o deleciones en *CDC73*), el MEN1 (variantes germinales patogénicas en *MEN1*), el MEN2 (mutaciones activantes en *RET*), el MEN4 (mutaciones inactivantes en CDKN1B), el MEN5 (variantes germinales patogénicas en MAX) y el síndrome de HP familiar aislado (*CDC73*) (6).

En la práctica clínica, es importante conocer las circunstancias que con más frecuencia asocian una susceptibilidad genética de base y que, por tanto, obligan a excluir esta posibilidad:

- Edad inferior a 45 años
- HPP con enfermedad paratiroidea multiglandular
- Historia familiar de HPP o con presencia de características propias de síndromes de HP hereditario bien definidos
- Historia personal de tumores incluidos en síndromes de HP hereditario
- Histología tumoral sugestiva de enfermedad relacionada con *CDC73*
- Deficiencia de PFM
- Pérdida global de p27 (MEN4), menina (MEN1) o MAX (MEN5) en una GP única multinodular o en enfermedad multiglandular
- Recurrencia del HPP por enfermedad paratiroidea asíncrona

El HPP es la presentación clínica usual del HPT-JT y, a diferencia de otros HP hereditarios donde predomina la afectación multiglandular, en este caso suele debutar como AP único o CP hasta en 60-80 % de los casos. Hasta el 15 % de los pacientes presentarán un CP a lo largo de la vida. Los tumores mandibulares, relativamente infrecuentes, suelen ser un hallazgo incidental y localizarse a nivel maxilar o mandibular. Habitualmente corresponden a fibromas osificantes. Las neoplasias paratiroideas relacionadas con alteraciones en *CDC73* muestran una correlación fenotipo morfológico-genotipo que puede ayudar a sospechar el diagnóstico y que incluye el patrón sólido por encima del acinar –que es el más habitual-, el aumento del tamaño nuclear con preservación de la relación núcleo:citoplasma, la eosinofilia citoplasmática acompañada de aclaramiento perinuclear y la bi o multinucleación. El diámetro de los tumores suele ser también mayor al habitual. La presencia de alguna de estas características histopatológicas aconseja el estudio inmunohistoquímico para la PFM.

En el contexto de MEN, por el contrario, es habitual un patrón multinodular que corresponde a AP múltiples y con afectación multiglandular. En el caso del MEN1 pueden aparecer característicamente GP ectópicas o supernumerarias en el mediastino.

**Agradecimientos**

JMC-T ha sido financiado por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), código PI23/00722, cofinanciado por la Unión Europea (UE).

**Bibliografía**

1. https://www.rcpath.org/static/17c11a0a-5bc0-4f17-882d7bb0aebb91c8/15727ce6-8cba-4143-a74cca7d851ea108/g102-datasetparathyroid.pdf. (21/02/2025)
2. Juhlin CC, Falhammar H, Zedenius J, Nilsson IL, Höög A. Lipoadenoma of the Parathyroid Gland: Characterization of an Institutional Series Spanning 28 Years. Endocr Pathol 2020;31(2):156-65.
3. Williams MD, DeLellis RA, Erickson LA, Gupta R, Johnson SJ, Kameyama K y col. Pathology data set for reporting parathyroid carcinoma and atypical parathyroid neoplasm: recommendations from the International Collaboration on Cancer Reporting. Hum Pathol 2021;110:73-82.
4. Nosé V, Gill A, Teijeiro JMC, Perren A, Erickson L. Overview of the 2022 WHO Classification of Familial Endocrine Tumor Syndromes. Endocr Pathol 2022;33(1):197-227.
5. Singeisen H, Renzulli MM, Pavlicek V, Probst P, Hauswirth F, Muller MK y col. Multiple endocrine neoplasia type 4: a new member of the MEN family. Endocr Connect 2023;12(2):e220411.
6. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Endocrine and neuroendocrine tumours [Internet]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2022 [cited YYYY Mmm D]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 10). Available from: https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/53. (21/02/2025)
7. Thevenon J, Bourredjem A, Faivre L, Cardot-Bauters C, Calender A, Murat A y col. Higher risk of death among MEN1 patients with mutations in the JunD interacting domain: a Groupe d'etude des Tumeurs Endocrines (GTE) cohort study. Hum Mol Genet 2013;22(10):1940-8.
8. Marini F, Falchetti A, Del Monte F, Carbonell Sala S, Gozzini A, Luzi E y col. Multiple endocrine neoplasia type 1. Orphanet J Rare Dis 2006;1:38.
9. Castinetti F, Eng C. Genotype/phenotype correlations in multiple endocrine neoplasia type 2. Endocr Relat Cancer 2024;31(12):e240139.
10. Wells SA, Asa SL, Dralle H, Elisei R, Evans DB, Gagel RF, et al. Revised American Thyroid Association guidelines for the management of medullary thyroid carcinoma. Thyroid Off J Am Thyroid Assoc 2015;25(6):567-610.
11. Cascón A, Robledo M. MAX and MYC: a heritable breakup. Cancer Res 2012;72(13):3119-24.
12. Seabrook AJ, Harris JE, Velosa SB, Kim E, McInerney-Leo AM, Dwight T y col. Multiple Endocrine Tumors Associated with Germline MAX Mutations: Multiple Endocrine Neoplasia Type 5? J Clin Endocrinol Metab 2021;106(4):1163-82.
13. Dupeux M, Aubert S. Chapter 13: Changes in 2022 WHO classification of parathyroid tumors. Ann Endocrinol 2025;86(1):101702.
14. Erickson LA, Mete O, Juhlin CC, Perren A, Gill AJ. Overview of the 2022 WHO Classification of Parathyroid Tumors. Endocr Pathol 2022;33(1):64-89.
15. Cetani F, Marcocci C, Torregrossa L, Pardi E. Atypical parathyroid adenomas: challenging lesions in the differential diagnosis of endocrine tumors. Endocr Relat Cancer 2019;26(7):R441-64.

16. Hirokawa M, Suzuki A, Higuchi M, Hayashi T, Kuma S, Miya A y col. Histological alterations following fine-needle aspiration for parathyroid adenoma: Incidence and diagnostic problems. Pathol Int 2021;71(6):400-5.

17. Erickson LA, Mete O. Immunohistochemistry in Diagnostic Parathyroid Pathology. Endocr Pathol 2018;29(2):113-29.

18. Erovic BM, Harris L, Jamali M, Goldstein DP, Irish JC, Asa SL y col. Biomarkers of parathyroid carcinoma. Endocr Pathol 2012;23(4):221-31.

19. Lloyd RV, Carney JA, Ferreiro JA, Jin L, Thompson GB, Van Heerden JA y col. Immunohistochemical Analysis of the Cell Cycle-Associated Antigens Ki-67 and Retinoblastoma Protein in Parathyroid Carcinomas and Adenomas. Endocr Pathol 1995;6(4):279-87.

20. Silva-Figueroa AM, Bassett R, Christakis I, Moreno P, Clarke CN, Busaidy NL y col. Using a Novel Diagnostic Nomogram to Differentiate Malignant from Benign Parathyroid Neoplasms. Endocr Pathol 2019;30(4):285-96.

21. Juhlin CC, Erickson LA. Genomics and Epigenomics in Parathyroid Neoplasia: from Bench to Surgical Pathology Practice. Endocr Pathol 2021;32(1):17-34.

22. Gill AJ, Lim G, Cheung VKY, Andrici J, Perry-Keene JL, Paik J y col. Parafibromin-deficient (HPT-JT Type, *CDC73* Mutated) Parathyroid Tumors Demonstrate Distinctive Morphologic Features. Am J Surg Pathol 2019;43(1):35-46.

23. Juhlin CC, Nilsson IL, Lagerstedt-Robinson K, Stenman A, Bränström R, Tham E y col. Parafibromin immunostainings of parathyroid tumors in clinical routine: a near-decade experience from a tertiary center. Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc 2019;32(8):1082-94.

24. Christmas TJ, Chapple CR, Noble JG, Milroy EJ, Cowie AG. Hyperparathyroidism after neck irradiation. Br J Surg 1988;75(9):873-4.

25. Simonds WF, Robbins CM, Agarwal SK, Hendy GN, Carpten JD, Marx SJ. Familial isolated hyperparathyroidism is rarely caused by germline mutation in HRPT2, the gene for the hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2004;89(1):96-102.

26. Cetani F, Ambrogini E, Viacava P, Pardi E, Fanelli G, Naccarato AG y col. Should parafibromin staining replace HRTP2 gene analysis as an additional tool for histologic diagnosis of parathyroid carcinoma? Eur J Endocrinol 2007;156(5):547-54.

27. Cavaco BM, Santos R, Félix A, Carvalho D, Lopes JM, Domingues R y col. Identification of de novo germline mutations in the HRPT2 gene in two apparently sporadic cases with challenging parathyroid tumor diagnoses. Endocr Pathol 2011;22(1):44-52.

28. Masi G, Iacobone M, Sinigaglia A, Mantelli B, Pennelli G, Castagliuolo I y col. Characterization of a new *CDC73* missense mutation that impairs Parafibromin expression and nucleolar localization. PloS One 2014;9(5):e97994.

29. Hu Y, Zhang X, Wang O, Bi Y, Xing X, Cui M y col. The genomic profile of parathyroid carcinoma based on whole-genome sequencing. Int J Cancer 2020;147(9):2446-57.

30. Clarke CN, Katsonis P, Hsu TK, Koire AM, Silva-Figueroa A, Christakis I y col. Comprehensive Genomic Characterization of Parathyroid Cancer Identifies Novel Candidate Driver Mutations and Core Pathways. J Endocr Soc 2019;3(3):544-59.

31. Pandya C, Uzilov AV, Bellizzi J, Lau CY, Moe AS, Strahl M y col. Genomic profiling reveals mutational landscape in parathyroid carcinomas. JCI Insight 2017;2(6):e92061.

32. Kutahyalioglu M, Nguyen HT, Kwatampora L, Clarke C, Silva A, Ibrahim E y col. Genetic profiling as a clinical tool in advanced parathyroid carcinoma. J Cancer Res Clin Oncol 2019;145(8):1977-86.

33. Asare EA, Silva-Figueroa A, Hess KR, Busaidy N, Graham PH, Grubbs EG y col. Risk of Distant Metastasis in Parathyroid Carcinoma and Its Effect on Survival: A Retrospective Review from a High-Volume Center. Ann Surg Oncol 2019;26(11):3593-9.

34. Harari A, Waring A, Fernandez-Ranvier G, Hwang J, Suh I, Mitmaker E y col. Parathyroid carcinoma: a 43-year outcome and survival analysis. J Clin Endocrinol Metab 2011;96(12):3679-86.

35. Cavalier E, Betea D, Schleck ML, Gadisseur R, Vroonen L, Delanaye P y col. The third/second generation PTH assay ratio as a marker for parathyroid carcinoma: evaluation using an automated platform. J Clin Endocrinol Metab 2014;99(3):E453-457.

36. Akirov A, Asa SL, Larouche V, Mete O, Sawka AM, Jang R y col. The Clinicopathological Spectrum of Parathyroid Carcinoma. Front Endocrinol 2019;10:731.

37. Alharbi N, Asa SL, Szybowska M, Kim RH, Ezzat S. Intrathyroidal Parathyroid Carcinoma: An Atypical Thyroid Lesion. Front Endocrinol. 2018;9:641.

38. Bondeson L, Sandelin K, Grimelius L. Histopathological variables and DNA cytometry in parathyroid carcinoma. Am J Surg Pathol 1993;17(8):820-9.

39. Hodgson A, Pakbaz S, Tayyari F, Young JEM, Mete O. Diagnostic Pitfall: Parathyroid Carcinoma Expands the Spectrum of Calcitonin and Calcitonin Gene-Related Peptide Expressing Neuroendocrine Neoplasms. Endocr Pathol 2019;30(2):168-72.

40. Rosenbaum JN, Guo Z, Baus RM, Werner H, Rehrauer WM, Lloyd RV. INSM1: A Novel Immunohistochemical and Molecular Marker for Neuroendocrine and Neuroepithelial Neoplasms. Am J Clin Pathol 2015;144(4):579-91.

41. Erickson LA, Jin L, Wollan P, Thompson GB, van Heerden JA, Lloyd RV. Parathyroid hyperplasia, adenomas, and carcinomas: differential expression of p27Kip1 protein. Am J Surg Pathol 1999;23(3):288-95.

42. Bergero N, De Pompa R, Sacerdote C, Gasparri G, Volante M, Bussolati G y col. Galectin-3 expression in parathyroid carcinoma: immunohistochemical study of 26 cases. Hum Pathol 2005;36(8):908-14.

43. Howell VM, Gill A, Clarkson A, Nelson AE, Dunne R, Delbridge LW, y col. Accuracy of combined protein gene product 9.5 and parafibromin markers for immunohistochemical diagnosis of parathyroid carcinoma. J Clin Endocrinol Metab 2009;94(2):434-41.

44. Truran PP, Johnson SJ, Bliss RD, Lennard TWJ, Aspinall SR. Parafibromin, galectin-3, PGP9.5, Ki67, and cyclin D1: using an immunohistochemical panel to aid in the diagnosis of parathyroid cancer. World J Surg 2014;38(11):2845-54.

45. Abbona GC, Papotti M, Gasparri G, Bussolati G. Proliferative activity in parathyroid tumors as detected by Ki-67 immunostaining. Hum Pathol 1995;26(2):135-8.

46. Farnebo F, Auer G, Farnebo LO, Teh BT, Twigg S, Aspenblad U, y col. Evaluation of retinoblastoma and Ki-67 immunostaining as diagnostic markers of benign and malignant parathyroid disease. World J Surg 1999;23(1):68-74.

# Recomendaciones del Grupo de Trabajo de Patología Ginecológica de la SEAP

# Heterogeneidad morfológica y molecular en los tumores epiteliales de ovario

**Irene Carretero-Barrio[1,2,3], José Palacios Calvo[1,2,3], Belén Pérez-Mies[1,2,3]**

1. *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria, Madrid*
2. *Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares*
3. *CIBERONC, Instituto de Salud Carlos III, Madrid*

## INTRODUCCIÓN

El carcinoma de ovario, al igual que otros tumores epiteliales malignos de otros órganos, es una enfermedad heterogénea. Los criterios para su clasificación han evolucionado en las últimas décadas de una forma muy significativa debido a los avances en biología molecular. Esto ha permitido mejorar sustancialmente el conocimiento de esta enfermedad. Antiguamente, la clasificación de los carcinomas de ovario se realizaba con un enfoque basado únicamente en la morfología mientras que, en la actualidad, se conoce que cada tipo histológico principal está asociado con diferentes lesiones precursoras y características específicas en términos epidemiológicos, morfológicos, genéticos, epigenéticos y clínicos.

A diferencia del cáncer de endometrio, actualmente no existe una clasificación molecular que se aplique a todos los carcinomas de ovario, sino que cada tipo histológico presenta un perfil molecular característico.

Actualmente, se reconocen cinco tipos histológicos principales de carcinoma de ovario. Entre estos se incluyen el carcinoma seroso de ovario de alto grado, el carcinoma seroso de ovario de bajo grado, el carcinoma mucinoso de ovario, el carcinoma de células claras de ovario y el carcinoma endometrioide de ovario. Estos tipos histológicos difieren no solo en sus características moleculares, sino también en su presentación clínica, lesiones precursoras, pronóstico y respuesta al tratamiento [1]. En este texto también se incluye el carcinoma mesonéfrico-like que, aunque poco frecuente, es un tumor agresivo que puede suponer un reto diagnóstico.

Aunque el carcinoma seroso de alto grado es el tipo histológico más común, es importante recordar que la frecuencia de los histotipos depende del estadio en el momento del diagnóstico. Así, en etapa temprana (estadios I-II de la clasificación FIGO), las frecuencias de carcinoma seroso de alto grado, endometrioide y de células claras son similares [2,3]. Sin embargo, en estadios avanzados el más frecuente es el carcinoma seroso de alto grado. Esto ha hecho que gran parte de la investigación en cáncer de ovario se haya centrado en este subtipo en particular.

El objetivo de esta revisión es resaltar las características histopatológicas y moleculares más relevantes que definen cada tipo principal de carcinoma de ovario y que podrían tener un impacto en el tratamiento de los pacientes. Es fundamental realizar un diagnóstico correcto para adecuar el tratamiento [2]. El uso de cuatro marcadores inmunohistoquímicos (WT1, p53, napsina y receptor de progesterona) se ha propuesto para mejorar el diagnóstico morfológico [4]. A estos cuatro

biomarcadores básicos se les pueden añadir otros que nos ayudarán a caracterizar mejor la neoplasia. Estos se expondrán en los siguientes apartados y quedan reflejados en la Figura 1.

**Figura 1.** Algoritmo diagnóstico de los distintos subtipos de carcinomas de ovario.

Además, en el cáncer de ovario en estadio avanzado han surgido nuevas terapias, como los inhibidores de PARP o fármacos conjugados como Mirvetuximab-Soravtansine, que usan el receptor de folato como puerta de entrada. Esto hace que hayan surgido nuevos biomarcadores en cáncer de ovario que el patólogo debe conocer, como son el estado de la recombinación homóloga o la expresión de receptor de folato α (FRα), respectivamente [5–7].

## Factores de riesgo en cáncer de ovario

El factor de riesgo más importante para desarrollar carcinoma de ovario es la herencia. Sin embargo, dentro de los otros factores de riesgo, hay una considerable heterogeneidad entre los cinco subtipos histológicos. Esto indica diferentes etiologías para cada subtipo.

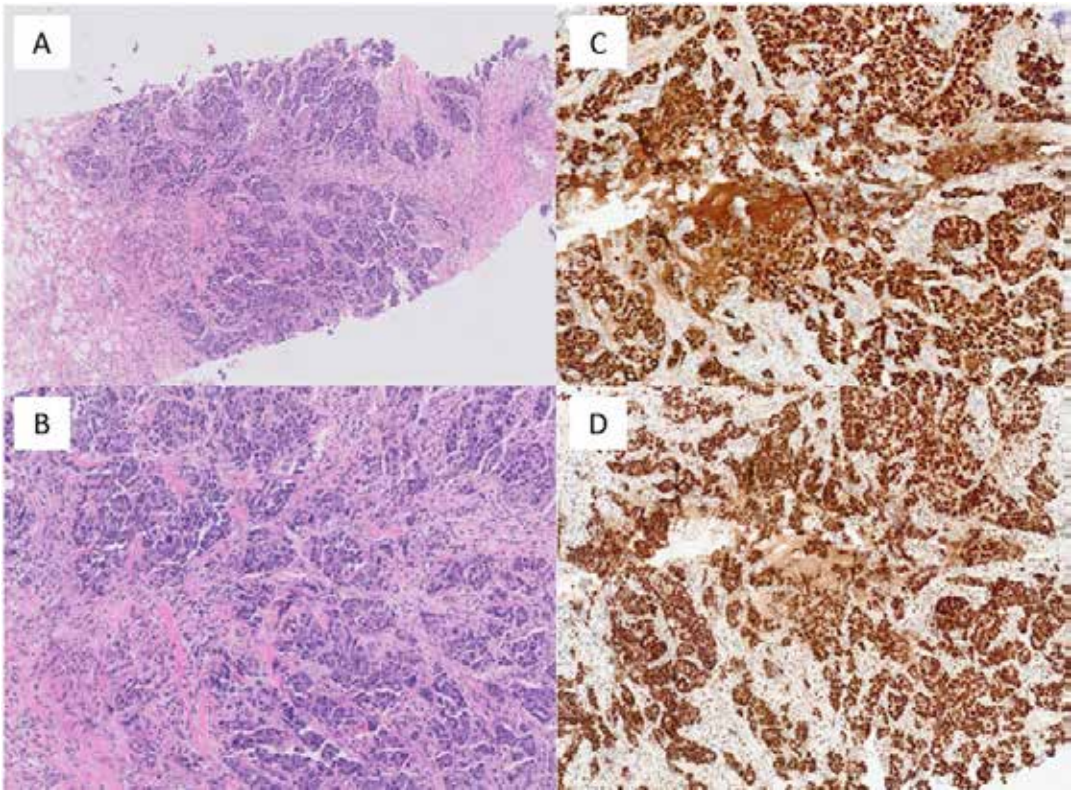
La nuliparidad, la menarquia temprana o la menopausia tardía, que aumentan el número total de ovulaciones en la vida de una mujer, incrementan el riesgo de cáncer de ovario. Otros factores de riesgo incluyen la edad por encima de los 63 años, la infertilidad o el aumento del índice de masa corporal. Además, la endometriosis se asocia con un mayor riesgo de carcinoma endometrioide y de célula clara; y el consumo de tabaco se ha asociado con mayor riesgo de carcinoma mucinoso. Aparte, existen factores protectores como la paridad, el uso de anticonceptivos orales, la ligadura de trompas y el uso regular de aspirina o agentes antiinflamatorios no esteroides [1,2].

## HISTOLOGIA Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LOS CARCINOMAS DE OVARIO

### Carcinoma seroso de alto grado

El carcinoma seroso de alto grado es el tipo de carcinoma de ovario más frecuente. Suele presentarse en estadios avanzados, por lo que es frecuente que su diagnóstico se tenga que realizar sobre material de biopsia con aguja gruesa. En general es un carcinoma que tiene mal pronóstico, a pesar de que un grupo de casos responde inicialmente al tratamiento basado en platinos. Histológicamente se caracteriza por presentar diferentes patrones arquitecturales, gran atipia nuclear y frecuentes figuras de mitosis. Desde el punto de vista inmunohistoquímico presentará expresión de WT1 y patrón mutado de p53, siendo negativo para napsina y con positividad variable para receptores hormonales (Figura 2) [1].

**Figura 2.** Carcinoma seroso de alto grado. A, B) Biopsia con aguja gruesa de carcinomatosis peritoneal. Hematoxilina-eosina. C) Las células neoplásicas expresan WT1 de forma difusa. D) Hay sobreexpresión de p53, lo que es sugestivo de mutación en *TP53*.




Es el tipo histológico que ocurre en pacientes del síndrome de cáncer de mama y ovario familiar por mutaciones germinales de *BRCA1* y *BRCA2*. Aunque no en todos los casos, se acepta que una de sus lesiones precursoras es el carcinoma seroso intraepitelial de trompa (*serous tubal intraepitelial carcinoma*, STIC). En la práctica conviene que todas las piezas de salpingo-oforectomía profiláctica sean procesadas completas para descartar la presencia de lesiones precursoras en las trompas de las pacientes portadoras de genes con predisposición al cáncer de ovario [1].

La alteración molecular más frecuente e inicial es la mutación de *TP53*, que ocurre en el 95 % de las pacientes y que induce un estado de inestabilidad cromosómica. Esta se manifiesta por la presencia de amplificaciones y deleciones en múltiples genes. Son comunes las amplificaciones de *CNNE1* (ciclina E1) y *MYC* [1].

Hasta un 50 % de los carcinomas serosos de alto grado muestran déficit de reparación del ADN por recombinación homóloga (*homologous recombination deficiency,* HRD). Por esta alteración tienen mayor sensibilidad a platino e inhibidores de PARP. Las alteraciones moleculares que condicionan HRD en el carcinoma seroso de alto grado son: mutaciones germinales o somáticas en *BRCA1* y *BRCA2* (25 %); metilación de *BRCA1* (10-20 %); mutaciones en otros genes involucrados en la recombinación homóloga (como *ATM*, *ATR*, *CHEK1* y *CHEK2*); y alteraciones en genes que regulan la recombinación homóloga (como deficiencias en *PTEN* y amplificación de *EMSY*) [8]**.**

La HRD puede ser evaluada a través de diversas pruebas genómicos que evalúan el daño en el ADN de forma global, lo que se conoce como cicatrices genómicas. Existen varios test comerciales disponibles en el mercado para la determinación de HRD, siendo necesario que la muestra contenga al menos un 30 % de celularidad neoplásica para poder realizarse [6,9].

Hasta un 20 % de los carcinomas serosos de alto grado presentan amplificación de *CCNE1*, que se relaciona con mal pronóstico y resistencia al tratamiento con platino. Alguna de las plataformas que informan del estado de HRD aportan también el estado de *CCNE1* por su valor pronóstico y predictivo de no respuesta a tratamiento. Se están testando además nuevos fármacos que actúan sobre *CCNE1* [10–12].

Por otro lado, el FRa es una glucoproteína transmembrana rica en cisteína anclada en la membrana celular, codificada por el gen *FOLR1*. Este receptor se une al ácido fólico y sus derivados, regulando la división celular y el crecimiento tisular mediante cascadas de señalización. La expresión del FRa en tejidos normales se limita a epitelios polarizados, como la placenta, la trompa de Falopio, el pulmón, el riñón y el plexo coroideo. Se ha observado una sobreexpresión de FRa en varios tipos de tumores sólidos. En cáncer de ovario puede haber sobreexpresión hasta en el 80 % de los casos [13].

El primer fármaco conjugado dirigido a células tumorales que expresan FRa es el Mirvetuximab-Soravtansine. El beneficio en pacientes con carcinoma seroso de alto grado de ovario con expresión de FRa se exploró en el ensayo SORAYA y se confirmó el estudio fase 3 MIRASOL. Por ello, el fármaco ha sido aprobado para su uso en carcinoma seroso de ovario avanzado con resistencia a platino ya tratado [14,15].

Para indicar el fármaco es necesario que el tumor exprese FRa de forma intensa o moderada en >75 % de las células neoplásicas. La expresión que se ha de considerar es la tinción de membrana y la tinción apical o en las luces de glándulas tumorales. El control positivo que debe emplearse es la trompa, donde tendremos tinción intensa apical, moderada de membrana en las paredes de las células epiteliales y negativa en el estroma. Actualmente, la expresión de FRa debe determinarse con el ensayo VENTANA FOLR1 (FOLR-2.1). Este ensayo ha sido validado analíticamente con muestras del estudio SORAYA, demostrando su reproducibilidad [7].

Por último, la expresión de HER2 en cáncer seroso de ovario en estadios avanzados también es objeto de investigación. Sin embargo, al igual que en el cáncer de endometrio, no está claro qué guía de interpretación se debe emplear para su valoración [16].

**Valoración de respuesta a tratamiento neoadyuvante en carcinoma seroso de alto grado**

Como se ha dicho anteriormente, es muy frecuente que el carcinoma seroso de alto grado de ovario se presente en estadios avanzados. Por tanto, es habitual que se tenga que dar quimioterapia neoadyuvante para intentar reducir la masa tumoral. De esta forma, si hay una buena respuesta, posteriormente se puede realizar el rescate quirúrgico.

Böhm *et al*. desarrollaron un sistema para la evaluación histopatológica de la respuesta a la quimioterapia neoadyuvante (puntuación de respuesta a la quimioterapia o CRS) para el carcinoma

seroso de alto grado, validado posteriormente por varios grupos, demostrando ser altamente reproducible [17].

Este sistema de puntuación se basa en la evaluación de la sección del omento que muestra la menor respuesta a la quimioterapia y es el sistema recomendado por el colegio americano de patólogos. Para ello se debe realizar un procesamiento macroscópico exhaustivo del omento incluyendo al menos 5 cortes para su evaluación. De esta forma clasificaremos la respuesta en tres niveles acorde a las siguientes características (Figura 3):

CRS 1: Sin respuesta o respuesta mínima del tumor

Principalmente tumor viable con o sin cambios fibroinflamatorios asociados a la regresión* de mínimos focos. Incluye casos en los que es difícil diferenciar entre regresión y desmoplasia asociada al tumor o infiltración de células inflamatorias.

CRS 2: Respuesta apreciable al tumor en medio de tumor viable, ambos fácilmente identificables y tumor regularmente distribuido

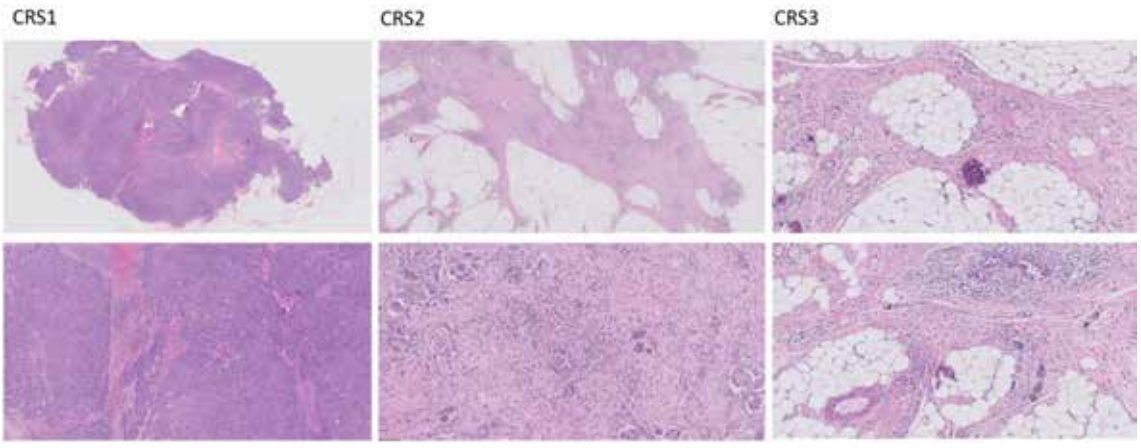
Va desde cambios fibroinflamatorios multifocales o difusos asociados a la regresión*, con tumor viable en láminas, bandas o nódulos, hasta cambios fibroinflamatorios extensos asociados a la regresión con tumor residual multifocal que es fácilmente identificable.

CRS 3: Respuesta completa o casi completa sin tumor residual o con focos tumorales irregulares mínimos dispersos, visibles como células individuales, grupos de células o nódulos de hasta 2 mm de tamaño máximo

Principalmente cambios fibroinflamatorios asociados a la regresión o, en casos raros, sin/escaso tumor residual en ausencia completa de cualquier respuesta inflamatoria. Se recomienda informar si es «sin tumor residual» o «tumor residual microscópico presente».

* Hay que distinguir los cambios fibroinflamatorios asociados a la regresión de aquellos asociados a la desmoplasia o a la inflamación asociada al tumor. Los cambios asociados a la regresión tumoral consisten en fibrosis asociada a macrófagos, incluidas células espumosas, células inflamatorias mixtas y cuerpos de psamoma.

**Figura 3.** Ejemplos de puntuaciones de valoración de respuesta a neodyuvancia en carcinoma seroso de alto grado, acorde a Böhm *et al*.



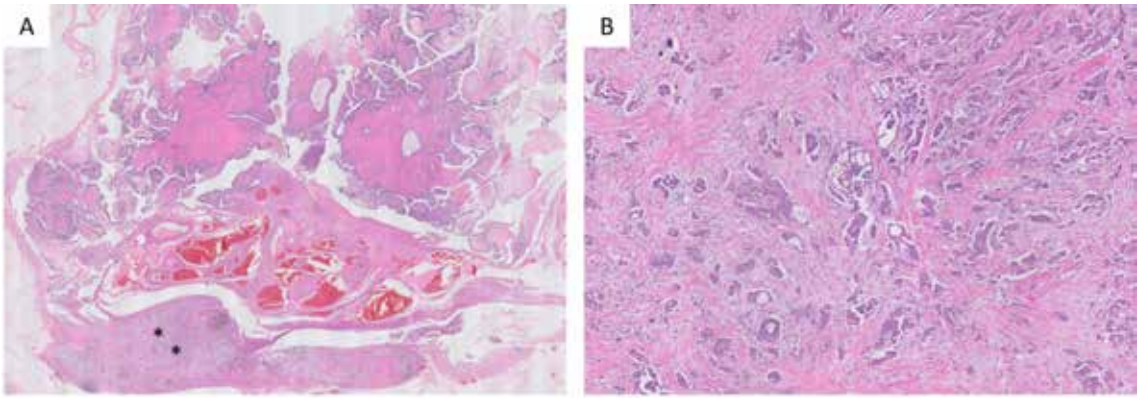
**Carcinoma seroso de bajo grado**

El carcinoma seroso de bajo grado es bastante menos frecuente que el de alto grado, suponiendo un 2-5 % de los carcinomas de ovario. Afecta a mujeres más jóvenes que el de alto grado y es un carcinoma quimio resistente. Esto implica que, en estadios iniciales, el tratamiento es preferentemente quirúrgico.

El carcinoma seroso de bajo grado presenta pocas alteraciones moleculares recurrentes, destacando las que afectan a genes de la vía RAS. Los genes más comúnmente mutados son *KRAS* (15 % al 54 %, media: 25 %) y *BRAF* (0 al 32 %, media: 8 %), siendo mutuamente excluyentes las mutaciones en ambos genes. Adicionalmente, se han descrito mutaciones en otros genes de la vía MAPK, destacando las mutaciones de *NRAS*, reflejándose en la literatura una frecuencia media del 8 % [2,18]. La mutación en *KRAS* se ha relacionado con mejores respuestas a inhibidores tirosin-kinasa como Binimetinib o Trametinib, por lo que se podría solicitar el estudio del estado mutacional de *KRAS* en estos tumores [19].

Histológicamente, el carcinoma seroso de bajo grado está constituido por una población monomorfa de células cuboideas o columnares con escaso citoplasma eosinófilo y orangófilo. La atipia es leve a moderada y el contaje de mitosis no suele ser mayor a 12 mitosis por 10 campos de gran aumento. La invasión > 5 mm debe estar presente para diferenciarlo de un tumor seroso borderline. Es frecuente que el tumor combine zonas de aspecto «borderline» (no invasivas). En ocasiones estas zonas borderline son más extensas que las invasivas, por lo que es muy importante un exhaustivo procesamiento macroscópico para llegar a un correcto diagnóstico. El componente invasivo puede identificarse en forma de células sueltas, micropapilas, etc. Los cuerpos de psamoma son frecuentes (Figura 4). Desde el punto de vista inmunohistoquímico presentará positividad para WT1, patrón de expresión no mutado para p53 y generalmente positividad para receptores hormonales. La tinción con napsina será típicamente negativa [2,4].

**Figura 4.** Carcinoma seroso de bajo grado. A) Panorámica de la neoplasia donde se pueden apreciar zonas de aspecto «borderline» y zonas de infiltración (asteriscos) en la esquina inferior izquierda. B) Detalle de las zonas infiltrantes.




**Carcinoma mucinoso**

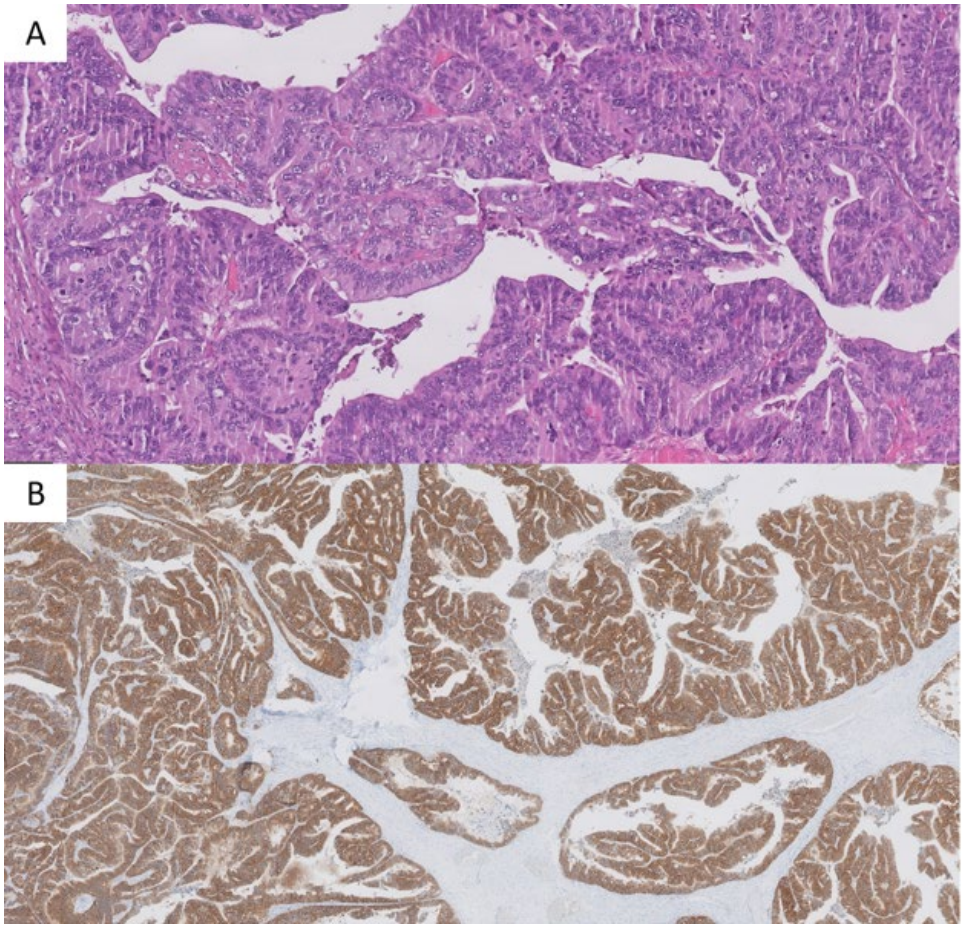
Ante toda neoplasia maligna mucinosa en el ovario hay que descartar una metástasis, fundamentalmente del tracto digestivo, ya que son más frecuentes que las neoplasias mucinosas primarias de ovario. Si la neoplasia es bilateral, lo más probable es que se trate de una metástasis. El carcinoma mucinoso primario de ovario supone sólo el 3-4 % de los carcinomas de ovario [1,20].

Morfológicamente, el carcinoma mucinoso puede tener dos patrones de crecimiento diferente: expansivo o infiltrativo. El patrón expansivo es más frecuente y se caracteriza por la presencia de glándulas neoplásicas adosadas unas a otras sin estroma entre ellas (Figura 5A). El área de infiltración debe ser mayor de 5 mm. El patrón infiltrativo es más destructivo y se pueden identificar glándulas o células aisladas infiltrando el estroma, que presenta importante reacción desmoplásica. Este patrón de infiltración es de peor pronóstico. Los carcinomas mucinosos de ovario son morfológicamente heterogéneos, de forma que pueden alternar zonas benignas, malignas y borderline. Por ello también es necesario hacer un muestreo amplio. Es importante conocer también que el ver zonas benignas o borderline no excluye que pueda tratarse de un metástasis [1].

Los carcinomas mucinosos se deben gradar por el sistema de Silverberg, que combina patrón arquitectural, atipia nuclear y contaje de mitosis; por el sistema FIGO, basado en el porcentaje de áreas de crecimiento sólido; o por el patrón de infiltración, siendo bajo grado el patrón expansivo y alto grado el patrón infiltrativo. Los sistemas Silverberg y de patrón de infiltración han mostrado correlación con el pronóstico, no así el sistema FIGO [21–23].

Las alteraciones moleculares más frecuentes (75 %) afectan al gen *CDKN2A* (p16), siendo lo más frecuente la deleción homocigota. Además, son frecuentes las mutaciones de *KRAS* y *TP53* (64 % en ambos casos) [24]. Las mutaciones de *KRAS* son muy comunes en el tumor mucinoso borderline, la lesión precursora del carcinoma mucinoso. Sin embargo, las mutaciones de *TP53* se encuentran solo en el 10 % de estas lesiones, lo que sugiere que están involucradas en la progresión tumoral. Otra alteración relativamente frecuente, que pudiera tener implicaciones terapéuticas, es la amplificación de *ERBB2*, que ocurre en el 17 %-38 % de los casos según las distintas series (Figura 5B) [1].

**Figura 5.** Carcinoma mucinoso de ovario. A) Carcinoma mucinoso con patrón de crecimiento expansivo. Hematoxilina-eosina. B) Sobreexpresión de HER2.



**Carcinoma endometrioide**

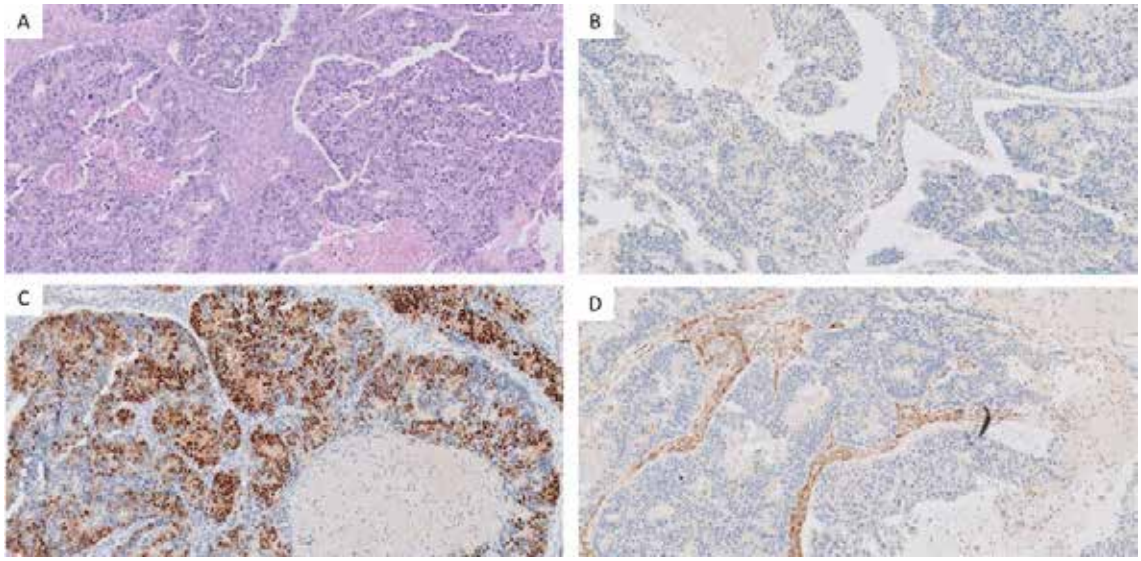
Los carcinomas endometrioides representan el 10 % de los carcinomas de ovario y es el subtipo que con más frecuencia ocurre en mujeres con síndrome de Lynch. Es el carcinoma de ovario de mejor pronóstico, ya que la mayoría se diagnostican en estadios iniciales y corresponden a grados bajos. Hasta el 17 % tendrán un adenocarcinoma endometrioide en el endometrio síncrono, habiéndose demostrado que la mayor parte de estas neoplasias están relacionadas clonalmente [25].

El carcinoma endometrioide de ovario muestra el mismo espectro de genes mutados que el carcinoma endometrioide de endometrio, aunque la frecuencia de mutaciones en cada gen es diferente. Por ejemplo, las mutaciones de *PTEN* son más comunes en los carcinomas de endometrio, mientras que las de *CTNNB1* (β-catenina) lo son en el ovario. Así, las alteraciones más comunes en el carcinoma endometrioide de ovario son: *CTNNB1* (30–50 %), *ARID1A* (30 %), *PIK3CA* (15–40 %), *KRAS* (12–33 %), *PTEN* (20 %) y *TP53* (6–24 %). Las frecuencias de las alteraciones están relacionadas con el grado. De esta forma, mientras que las mutaciones de *CTNNB1* son comunes en tumores de bajo grado (grado FIGO I y II), son infrecuentes en los de alto grado. Lo contrario que ocurre con las mutaciones de *TP53* [2,26].

El carcinoma endometrioide de ovario puede ser clasificado mediante la clasificación molecular propuesta para el carcinoma endometrioide de endometrio. Según diversos estudios, la frecuencia de los distintos subtipos en el carcinoma endometrioide de ovario sería: 58 %–61 % sin subtipo molecular específico, 11 %–24 % p53 anormal, 8 %–19 % con MMRd/MSI y 3 %–10 % *POLE* mutado [26].

Morfológicamente es idéntico al carcinoma endometrioide de endometrio y su precursor es la endometriosis de ovario. Se grada acorde al sistema FIGO (basado en la formación glandular y la atipia nuclear). Es muy frecuente que presenten diferenciación escamosa o mórulas, especialmente los de bajo grado, lo que facilita su diagnóstico. Sin embargo, los carcinomas endometrioides de alto grado pueden ser morfológicamente muy parecidos a los carcinomas serosos de alto grado, por lo que la tinción negativa para WT1 ayuda a su correcto diagnóstico (Figura 6) [1,27].

**Figura 6.** Carcinoma endometrioide de ovario de alto grado. A) Detalle morfológico. Hematoxilina-eosina. B) Tinción negativa para WT1. C) Expresión de receptor de progesterona. D) Pérdida de expresión de PTEN sugestiva de alteración del gen *PTEN*.



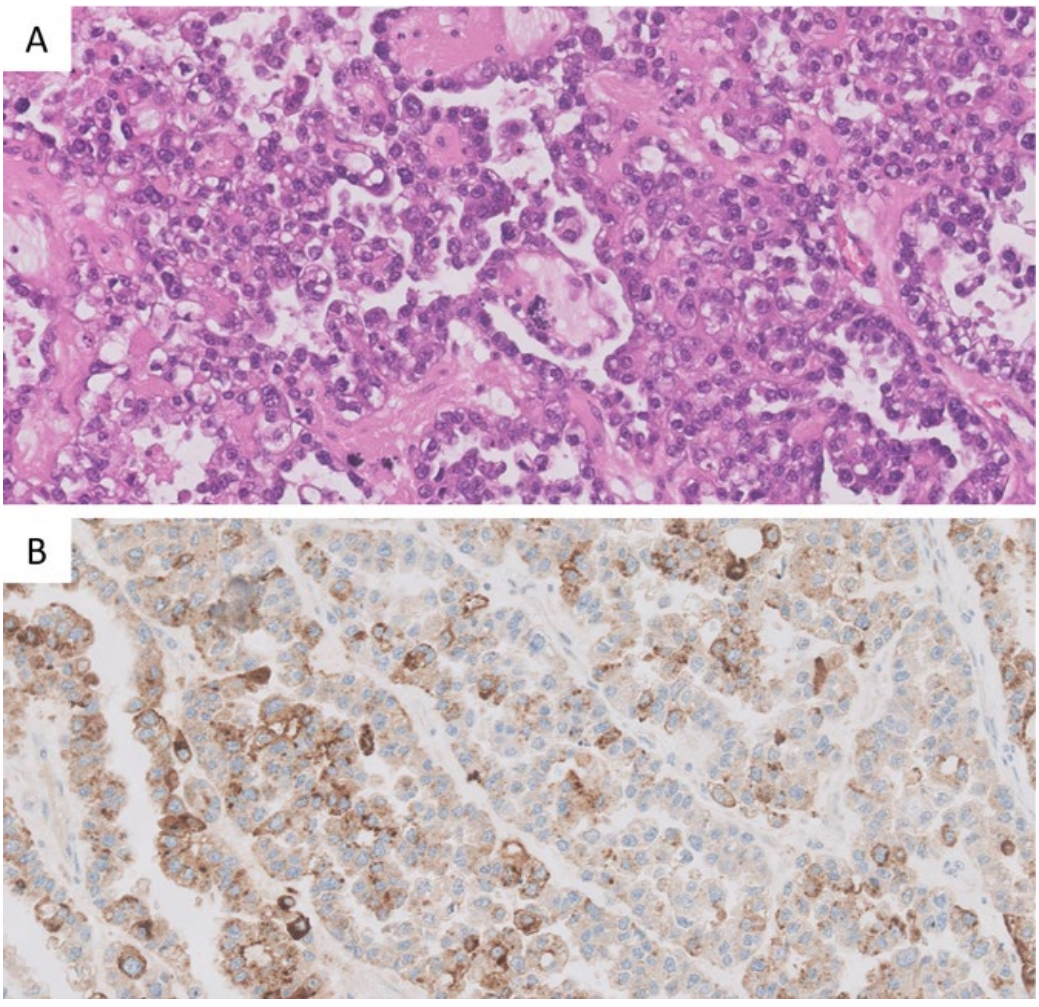
**Carcinoma de células claras**

Supone aproximadamente el 10 % de los carcinomas de ovario, suelen ser unilaterales y son de mal pronóstico en estadios avanzados. Morfológicamente, el carcinoma de células claras puede presentar diferentes patrones de crecimiento (papilar, sólido, glandular) y está caracterizado por presentar células de citoplasmas claros o eosinófilos y núcleos con atipia variable. Son frecuentes los ejes hialinizados y las células en tachuela (Figura 7). La presencia aislada de células claras en un tumor no es indicativa de que corresponda a un carcinoma de células claras, ya que otros tumores (como en el endometrioide) pueden presentarlas. Con tinciones de inmunohistoquímica, se caracteriza por presentar positividad para napsina, HNF1b y PAX8; siendo generalmente negativos para receptores hormonales y WT1. P53 podría presentar patrón de expresión no mutado o mutado [1].

El gen más comúnmente mutado en el carcinoma de células claras de ovario es *ARID1A* (57 %-75 %, según las series). *PIK3CA* es el segundo gen más frecuentemente mutado (50 %), seguido por otros como *TERT* (20 %), *KRAS* (10–17 %), *PPP2R1a* (10–19 %), *PTEN* (1–5 %), etc. Las mutaciones de *TP53* se han observado en aproximadamente 20 % de los carcinomas de células claras de ovario. Entre el 25 % y 5 % presentan MMRd, siendo el segundo tipo histológico de cáncer de ovario, tras el carcinoma endometrioide, que puede ocurrir en pacientes con síndrome de Lynch [28].

Este tumor, al igual que el carcinoma endometrioide, también tiene su origen en una transformación maligna de la endometriosis, aunque el mecanismo molecular aún no se conoce [27].

**Figura 7.** Carcinoma de células claras. A) Presencia de ejes hialinos y células en tachuela. Hematoxilina-eosina. B) Positividad para napsina.



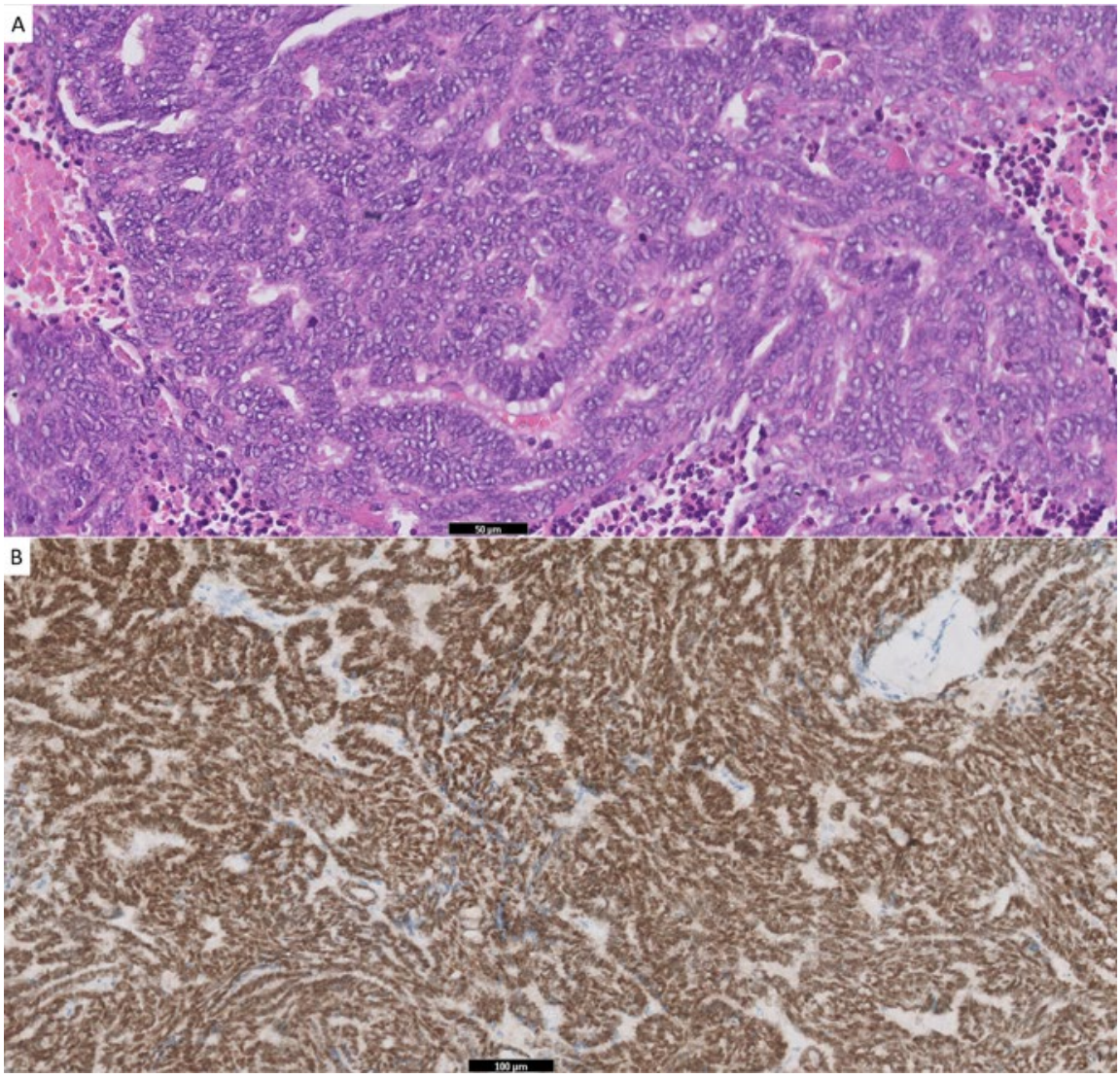
**Carcinoma de tipo mesonéfrico-like del ovario**

Estos agresivos e infrecuentes tumores suponen un importante reto diagnóstico. Dada su asociación con endometriosis y carcinoma endometrioide, la teoría más aceptada actualmente para su origen es la transdiferenciación desde un epitelio Mülleriano/Wolfiano, más que desde auténticos restos mesonéfricos. Se ha propuesto el nombre de mesonéfrico-like para distinguirlo del carcinoma mesonéfrico del cérvix, que realmente proviene de restos mesonéfricos.

Debido a este origen, morfológicamente se parecen a los carcinomas endometrioides, especialmente a los de bajo grado, por lo que una clave para su identificación es la ausencia de expresión de receptores hormonales [29,30]. Se ha propuesto un panel de 5 biomarcadores para ayudar a reconocer este tumor: PAX2, receptor de estrógenos y progesterona, GATA3 y TTF1 (Figura 8). La mayoría de los carcinomas endometrioides pierden la expresión de PAX2 y son positivos para receptores hormonales; mientras que el carcinoma mesonéfrico-like va a ser negativo para receptores hormonales, conserva expresión de PAX2 y es positivo para GATA3 o TTF1 [30].

Desde el punto de vista molecular, el carcinoma de tipo mesonéfrico-like de ovario y endometrio son similares, siendo las mutaciones en *KRAS* la alteración molecular más frecuente en estos tumores [29].

**Figura 8.** Carcinoma de tipo mesonéfrico-like. A) Hematoxilina-eosina. B) GATA3.



## CONCLUSIONES

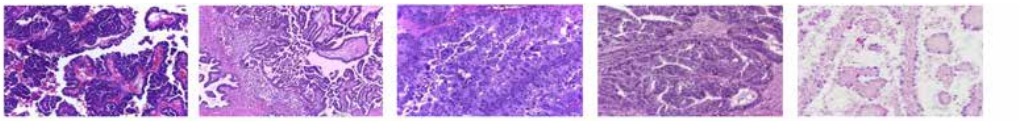
Los cinco tipos principales de cáncer de ovario representan el 98 % de los casos y son enfermedades distintas con diferencias significativas en factores de riesgo, alteraciones genéticas, historia natural y respuesta al tratamiento.

El uso de 4 marcadores inmunohistoquímicos (WT1, p53, receptor de progesterona y napsina) facilita el diagnóstico y mejora la reproducibilidad entre patólogos (Figura 1).

Se debe homogeneizar la valoración de la respuesta al tratamiento neoadyuvante en el carcinoma seroso de alto grado. El sistema de Böhm *et al*. es el aceptado actualmente (Figura 3).

El conocimiento de las características moleculares de cada subtipo ayuda a mejorar el diagnóstico, a guiar los tratamientos dirigidos y a identificar nuevas líneas de investigación. En la Figura 9 se muestra un resumen con las características principales de los tumores.

**Figura 9.** Resumen de las características principales de los carcinomas de ovario más frecuentes.



| Tipo | Ca. seroso de alto grado | Ca. seroso de bajo grado | Ca. mucinoso | Ca. endometrioide | Ca. células claras |
|---|---|---|---|---|---|
| Presentación | Estadios avanzados | Estadios iniciales y avanzados | Estadios iniciales y avanzados | Estadios iniciales<br>Síndrome de Lynch | Estadios iniciales |
| Frecuencia | 70-80% | 2-5% | 2-4% | 10-12% | 10-12% |
| Genes alterados | *TP53*<br>*BRCA1/2*<br>HRD | *KRAS*<br>*BRAF* | *KRAS*<br>*TP53*<br>*HER2* | *ARID1A*<br>*PIK3CA*<br>*PTEN*<br>*CTNNB1* | *ARID1A*<br>*PIK3CA*<br>*TP53* |
| Tratamiento | Platino/iPARP | Resistente a QT | Resistente a QT | Resistente a QT | Resistente a QT |
| Pronóstico | Malo | Malo en estadios avanzados | Malo en estadios avanzados | Malo en estadios avanzados | Malo en estadios avanzados |
| Lesión precursora | STIC | Tumor Borderline | Tumor borderline | Endometriosis | Endometriosis |
| IHQ | WT1+,p53 mutado, RRHH +/-, napsina - | WT1+, p53 no mutado, RRHH+, napsina - | WT1-, RRHH -, napsina -, p53 mutado/no mutado | WT1-, RRHH +, napsina -, p53 mutado/no mutado | WT1-, RRHH -, napsina +, p53 mutado/no mjutado |

## Bibliografía


1. Organisation mondiale de la santé, Centre international de recherche sur le cancer, editors. Female genital tumours. 5th ed. Lyon: International agency for research on cancer; 2020.

2. Romero I, Leskelä S, Mies BP, Velasco AP, Palacios J. Morphological and molecular heterogeneity of epithelial ovarian cancer: Therapeutic implications. EJC Suppl 2020;15:1–15. https://doi.org/10.1016/j.ejcsup.2020.02.001.

3. Leskela S, Romero I, Cristobal E, Pérez-Mies B, Rosa-Rosa JM, Gutierrez-Pecharroman A, et al. The Frequency and Prognostic Significance of the Histologic Type in Early-stage Ovarian Carcinoma: A Reclassification Study by the Spanish Group for Ovarian Cancer Research (GEICO). Am J Surg Pathol 2020;44:149–61. https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000001365.

4. Köbel M, Rahimi K, Rambau PF, Naugler C, Le Page C, Meunier L, et al. An Immunohistochemical Algorithm for Ovarian Carcinoma Typing. Int J Gynecol Pathol 2016;35:430–41. https://doi.org/10.1097/PGP.0000000000000274.

5. Fuh K, Mullen M, Blachut B, Stover E, Konstantinopoulos P, Liu J, et al. Homologous recombination deficiency real-time clinical assays, ready or not? Gynecol Oncol 2020;159:877–86. https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2020.08.035.

6. Stover EH, Fuh K, Konstantinopoulos PA, Matulonis UA, Liu JF. Clinical assays for assessment of homologous recombination DNA repair deficiency. Gynecol Oncol 2020;159:887–98. https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2020.09.029.

7. James RL, Sisserson T, Cai Z, Dumas ME, Inge LJ, Ranger-Moore J, et al. Development of an FRα Companion Diagnostic Immunohistochemical Assay for Mirvetuximab Soravtansine. Arch Pathol Lab Med 2024;148:1226–33. https://doi.org/10.5858/arpa.2023-0149-OA.

8. Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. Nature 2011;474:609–15. https://doi.org/10.1038/nature10166.

9. Chiang Y-C, Lin P-H, Cheng W-F. Homologous Recombination Deficiency Assays in Epithelial Ovarian Cancer: Current Status and Future Direction. Front Oncol 2021;11:675972. https://doi.org/10.3389/fonc.2021.675972.

10. Chan AM, Enwere E, McIntyre JB, Wilson H, Nwaroh C, Wiebe N, et al. Combined CCNE1 high-level amplification and overexpression is associated with unfavourable outcome in tubo-ovarian high-grade serous carcinoma. J Pathol Clin Res 2020;6:252–62. https://doi.org/10.1002/cjp2.168.

11. Fu S, Yao S, Yuan Y, Previs RA, Elias AD, Carvajal RD, et al. Multicenter Phase II Trial of the WEE1 Inhibitor Adavosertib in Refractory Solid Tumors Harboring CCNE1 Amplification. J Clin Oncol 2023;41:1725–34. https://doi.org/10.1200/JCO.22.00830.

12. Kang E-Y, Weir A, Meagher NS, Farrington K, Nelson GS, Ghatage P, et al. CCNE1 and survival of patients with tubo-ovarian high-grade serous carcinoma: An Ovarian Tumor Tissue Analysis consortium study. Cancer 2023;129:697–713. https://doi.org/10.1002/cncr.34582.

13. Gonzalez T, Muminovic M, Nano O, Vulfovich M. Folate Receptor Alpha-A Novel Approach to Cancer Therapy. Int J Mol Sci 2024;25:1046. https://doi.org/10.3390/ijms25021046.

14. Matulonis UA, Lorusso D, Oaknin A, Pignata S, Dean A, Denys H, et al. Efficacy and Safety of Mirvetuximab Soravtansine in Patients With Platinum-Resistant Ovarian Cancer With High Folate Receptor Alpha Expression: Results From the SORAYA Study. J Clin Oncol 2023;41:2436–45. https://doi.org/10.1200/JCO.22.01900.

15. Moore KN, Angelergues A, Konecny GE, García Y, Banerjee S, Lorusso D, et al. Mirvetuximab Soravtansine in FRα-Positive, Platinum-Resistant Ovarian Cancer. N Engl J Med 2023;389:2162–74. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2309169.

16. Yeo M-K, Kim S, Yoo HJ, Suh K-S, Kim K-H. HER2 Expression in Peritoneal Dissemination of High-Grade Serous Ovarian Carcinoma: A Comparative Study of Immunohistochemical Reactivity Using Four HER2 Antibodies. J Clin Med 2022;11:6963. https://doi.org/10.3390/jcm11236963.

17. Böhm S, Faruqi A, Said I, Lockley M, Brockbank E, Jeyarajah A, et al. Chemotherapy Response Score: Development and Validation of a System to Quantify Histopathologic Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Tubo-Ovarian High-Grade Serous Carcinoma. J Clin Oncol 2015;33:2457–63. https://doi.org/10.1200/JCO.2014.60.5212.

18. Babaier A, Mal H, Alselwi W, Ghatage P. Low-Grade Serous Carcinoma of the Ovary: The Current Status. Diagnostics (Basel) 2022;12:458. https://doi.org/10.3390/diagnostics12020458.

19. Grisham RN, Slomovitz BM, Andrews N, Banerjee S, Brown J, Carey MS, et al. Low-grade serous ovarian cancer: expert consensus report on the state of the science. Int J Gynecol Cancer 2023;33:1331–44. https://doi.org/10.1136/ijgc-2023-004610.

20. Buza N. Frozen Section Diagnosis of Ovarian Epithelial Tumors: Diagnostic Pearls and Pitfalls. Arch Pathol Lab Med 2019;143:47–64. https://doi.org/10.5858/arpa.2018-0289-RA.

21. Busca A, Nofech-Mozes S, Olkhov-Mitsel E, Gien LT, Bassiouny D, Mirkovic J, et al. Histological grading of ovarian mucinous carcinoma - an outcome-based analysis of traditional and novel systems. Histopathology 2020;77:26–34. https://doi.org/10.1111/his.14039.

22. Shimizu Y, Kamoi S, Amada S, Akiyama F, Silverberg SG. Toward the development of a universal grading system for ovarian epithelial carcinoma: testing of a proposed system in a series of 461 patients with uniform treatment and follow-up. Cancer 1998;82:893–901. https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0142(19980301)82:5<893::aid-cncr14>3.0.co;2-w.

23. Momeni-Boroujeni A, Song H, Irshaid L, Strickland S, Parra-Herran C, Busca A. Outcome-based Validation of Confluent/Expansile Versus Infiltrative Pattern Assessment and Growth-based Grading in Ovarian Mucinous Carcinoma. Am J Surg Pathol 2022;46:1250–9. https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000001895.

24. Cheasley D, Wakefield MJ, Ryland GL, Allan PE, Alsop K, Amarasinghe KC, et al. The molecular origin and taxonomy of mucinous ovarian carcinoma. Nat Commun 2019;10:3935. https://doi.org/10.1038/s41467-019-11862-x.

25. Schultheis AM, Ng CKY, De Filippo MR, Piscuoglio S, Macedo GS, Gatius S, et al. Massively Parallel Sequencing-Based Clonality Analysis of Synchronous Endometrioid Endometrial and Ovarian Carcinomas. J Natl Cancer Inst 2016;108:djv427. https://doi.org/10.1093/jnci/djv427.

26. Leskela S, Romero I, Rosa-Rosa JM, Caniego-Casas T, Cristobal E, Pérez-Mies B, et al. Molecular Heterogeneity of Endometrioid Ovarian Carcinoma: An Analysis of 166 Cases Using the Endometrial Cancer Subrogate Molecular Classification. Am J Surg Pathol 2020;44:982–90. https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000001478.

27. Giannini A, Massimello F, Caretto M, Cosimi G, Mannella P, Luisi S, et al. Factors in malignant transformation of ovarian endometriosis: A narrative review. Gynecol Endocrinol 2024;40:2409911. https://doi.org/10.1080/09513590.2024.2409911.

28. Bolton KL, Chen D, Corona de la Fuente RI, Fu Z, Murali R, K Bel M, et al. Molecular subclasses of clear cell ovarian carcinoma and their impact on disease behavior and outcomes. Clin Cancer Res 2022:ccr.21.3817. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-21-3817.

29. Brambs CE, Horn L-C, Hiller R, Krücken I, Braun C, Christmann C, et al. Mesonephric-like adenocarcinoma of the female genital tract: possible role of KRAS-targeted treatment-detailed molecular analysis of a case series and review of the literature for targetable somatic KRAS-mutations. J Cancer Res Clin Oncol 2023;149:15727–36. https://doi.org/10.1007/s00432-023-05306-9.

30. Köbel M, Kang EY, Lee S, Ogilvie T, Terzic T, Wang L, et al. Mesonephric-type adenocarcinomas of the ovary: prevalence, diagnostic reproducibility, outcome, and value of PAX2. J Pathol Clin Res 2024;10:e12389. https://doi.org/10.1002/2056-4538.12389

# Guía informe cáncer de endometrio

**Esther Guerra[1], Xavier Matias-Guiu[2]**

1. *Servicio de Anatomía Patológica.Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona*
2. *Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitari Arnau de Vilanova. Universitat de Lleida. Institut de Recerca Biomèdica. Lleida*

En este documento se incluyen los elementos esenciales y no esenciales que deben constar en un informe de Patología en piezas de resección de cáncer de endometrio. Está basado en el documento de la International Collaboration on Cancer Reporting (ICCR) de 2024 [1], con algunas actualizaciones, así como en la guía European Society of Gynaecological Oncology (ESGO)-European Society for Radiotherapy and Oncology (ESTRO)-European Society of Pathology (ESP) de cáncer de endometrio de 2025 [2]

Los elementos esenciales son aquellos que son imprescindibles para el manejo clínico, la estadificación o el pronóstico del cáncer, considerándose los datos mínimos que deben figurar en un informe para un cáncer específico. Estos elementos tendrán un nivel de evidencia III-2 o superior (basado en factores pronósticos en los niveles de evidencia del National Health and Medical Research Council[3].

Los elementos no esenciales son aquellos que se acuerda unánimemente que deben incluirse en el conjunto de datos, pero que no están respaldados por pruebas de nivel III-2. Estos elementos pueden ser clínicamente importantes y recomendarse como buena práctica, pero aún no están validados ni se utilizan regularmente en el manejo de los pacientes.

## ELEMENTOS ESENCIALES

### Procedimiento quirúrgico

- No especificado
- Histerectomía
- Simple / Simple subtotal/ Supracervical/ Radical/ No especificada
- Otros

En función del grado de diseminación del carcinoma evaluado clínica o radiológicamente, se realiza una histerectomía simple o radical, que puede o no formar parte de un procedimiento de estadificación. La histerectomía simple se define como la extirpación total del útero (incluído el cuello uterino). La histerectomía radical implica la resección en bloque del útero y el cuello uterino junto con los parametrios circundantes, la parte superior de la vagina y los ligamentos uterosacros. Estos procedimientos pueden realizarse mediante laparoscopia, laparoscopia asistida por robot o laparotomía. Por último, si el tumor está macroscópicamente diseminado, puede realizarse un procedimiento de citorreducción para extirpar todo el tumor visible.

La exenteración pélvica no es un procedimiento frecuente, pero se utiliza ocasionalmente en el cáncer de endometrio avanzado y recurrente, y está reconocida en la guía ESGO-ESTRO-ESP 2020 [4]. En algunos casos, se puede encontrar malignidad en una muestra de histerectomía morcelada. La morcelación debe evitarse siempre que exista sospecha de carcinoma endometrial. El tratamiento hormonal primario puede considerarse en una mujer que desea conservar la fertilidad.

**Espécimen remitido**

- No especificado
- Trompa
  - Derecha/ Izquierda/ Lateralidad no especificada
- Ovario
  - Derecho/ Izquierdo / Lateralidad no especificada
- Parametrio
- Rodete vaginal
- Omento
- Biopsias peritoneales
- Lavados peritoneales
- Linfadenectomías
- Ganglios centinelas
  - Derecho/ Izquierdo/ Lateralidad no especificada
- Ganglios regionales pélvicos
  - Derecho/ Izquierdo/Lateralidad no especificada
- Ganglios regionales paraaóritcos
  - Derecho/ Izquierdo/ Lateralidad no especificada
- Ganglios no regiones inguinales
  - Derecho/ Izquierdo/ Lateralidad no especificada
- Otros

Las estructuras anatómicas anexas pueden incluir el manguito vaginal, los ovarios, las trompas de Falopio o los parametrios. Pueden enviarse otras muestras para revisión patológica, como epiplón, ganglios linfáticos centinela, ganglios linfáticos pélvicos y paraaórticos, lavados peritoneales y biopsias peritoneales de diversas localizaciones.

Se recomienda pintar las superficies peritoneales y/o no peritoneales en las muestras de histerectomía y es esencial en las muestras de histerectomía radical en las que hay un manguito vaginal y así poder establecer el estado de los márgenes [5].

**Tipo histológico**

Todos los carcinomas endometriales deben clasificarse de acuerdo con la Clasificación de Tumores ginecológicos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), 5ª edición, 2020 *(Tabla 1)* [6]. Se ha demostrado que el tipo histológico de tumor es un importante factor biológico predictivo en el carcinoma de endometrio. La tipificación histológica precisa es importante tanto en las muestras de biopsia como en las de resección, ya que esta determina el alcance de la intervención quirúrgica inicial y el uso posterior de terapia adyuvante [7].

La nueva clasificación de la OMS incluye ciertas modificaciones respecto a la OMS 2014 entre ellos:

- Se describen nuevos patrones histológicos de carcinoma endometrioide (CEE), el fusocel·lular, sex-cord-like, small-non villous papillae, diferenciación mucinosa.

- El carcinoma mucinoso (OMS 2014) desaparece como tipo histológico y ahora se considera un patrón del CEE.
- Carcinoma seroso intraepitelial (OMS 2014) desaparece el término intraepitelial, ya que a pesar de no infiltrar el carcinoma seroso puede metastatizar.
- Nuevas entidades: se incorporan el adenocarcinoma de tipo mesonéfrico, el carcinoma mucinoso de tipo gastrointestinal y el carcinoma escamoso.
- Carcinosarcoma se incluye ahora como un tipo muy agresivo de carcinoma endometrial, en lugar de una neoplasia mixta epitelial y mesenquimal. Los avances moleculares han demostrado que las células tumorales expresan características de transición epitelio-mesénquima. La presencia de elementos heterólogos en los carcinosarcomas es una característica pronóstica adversa importante, especialmente en los tumores de estadio bajo [8], [9]. La notificación del porcentaje de elementos epiteliales y sarcomatosos y de si el componente sarcomatoso es homólogo o heterólogo es un elemento no esencial. El caso de carcinoma que surge en un adenosarcoma, circunstancia poco habitual, parece ser un proceso biológico distinto y no debe diagnosticarse como carcinosarcoma [10].

Los carcinomas neuroendocrinos del endometrio se incluyen en la sección de tumores neuroendocrinos del tracto genital femenino de la Clasificación de la OMS de 2020 [6]. El subtipo de carcinoma neuroendocrino es un elemento no esencial.

A efectos de estadificación, el sistema de estadificación de la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO) de 2023 distingue dos grupos principales de tumores en cuanto al tipo histológico [7]:

- *No agresivos*: se componen de CEE de bajo grado (G1, G2).
- *Agresivos*: se componen de CEE de alto grado (G3), carcinomas serosos, mixtos, de células claras, indiferenciado, desdiferenciado, adenocarcinoma de tipo mesonéfrico, carcinoma mucinoso de tipo gastrointestinal y carcinosarcomas.

**Tabla 1.** Clasificación de tumores endometriales OMS 2020.

| TUMORES EPITELIALES ENDOMETRIALES Y PRECURSORES |
|---|
| Hiperplasia endometrial sin atipia |
| 8380/2 Hiperplasia endometrial atípica |
| 8380/3 Adenocarcinoma endometrioide |
| Carcinoma endometrioide ultramutado - *POLE* |
| Carcinoma endometrioide con deficiencia-MMR |
| Carcinoma endometrioide p53 mutado |
| Carcinoma endometrioide sin perfil molecular específico |
| 8441/3 Carcinoma seros |
| 8310/3 Adenocarcinoma de células claras |
| 8020/3 Carcinoma indiferenciado |
| 8323/3 Adenocarcinoma mixto |
| 9110/3 Adenocarcinoma mesonéfrico |
| 8070/3 Carcinoma escamoso |
| 8144/3 Carcinoma mucinoso tipo gástrico |
| 9111/3 Adenocarcinoma de tipo mesonéfrico |
| 8980/3 Carcinosarcoma |

**Grado histológico**

- No aplica
- No evaluable
- Grado 1 (bajo)
- Grado 2 (bajo)
- Grado 3 (alto)

La caracterización del grado histológico es muy importante tanto en la biopsia/el legrado inicial como en la muestra final de la histerectomía, ya que la estratificación del riesgo y las decisiones sobre el alcance del tratamiento quirúrgico y la administración de terapia adyuvante tienen en cuenta la información sobre la gradación [4].

La International Society of Gynaecological Pathology (ISGyP) y la clasificación de la OMS de 2020 destacan los beneficios de la clasificación binaria, según la cual los tumores G1 y G2 se clasifican como de grado bajo y los G3 como de alto grado [6], [11]. Esta recomendación ha sido incluida en los criterios de estadificación de la FIGO de 2023, basándose en los beneficios para facilitar la toma de decisiones clínicas y mejora de la reproducibilidad. Sin embargo, hay que remarcar que el sistema de tres grados tiene valor en pacientes que solicitan estrategias de preservación de fertilidad.

Los criterios de gradación FIGO 2023 para el CEE se basan principalmente en las características arquitectónicas [7] :

- Los tumores de bajo grado (G1 y G2), que presentan hasta un 5 % y un 6 %-50 % respectivamente, de componente sólido no glandular.
- Los CEE de alto grado (G3) se caracterizan por un componente sólido del 50 % o más. Los carcinomas serosos, de células claras, mixtos, indiferenciados, adenocarcinoma de tipo mesonéfrico, carcinoma mucinoso de tipo gastrointestinal y carcinosarcomas se consideran de alto grado por definición.

La presencia de atipia citológica marcada en la mayoría de las células (>50 %) aumenta el grado en un nivel. En los CEE con diferenciación escamosa, el grado del tumor debe evaluarse en las áreas no escamosas. En los CEE con una arquitectura de bajo grado, pero con una atipia nuclear marcada debe descartarse el carcinoma seroso. Respecto al patrón microacinar confluente la ISGyP avala su interpretación como crecimiento sólido, aunque no existen pruebas científicas [11]

El grado es especialmente importante en los CEE de perfil molecular no especifico (NSMP). Los CEE con alteraciones en la reparación del DNA (MMRd) y *POLE* mutados pueden parecer alto grado debido a sus frecuentes mutaciones, y en estos casos el grado histológico no es un factor pronóstico.

La concordancia en el grado histopatológico entre las muestras de biopsia y las de histerectomía varía, con una concordancia de sólo el 35 % en algunas series. La heterogeneidad tumoral puede explicar parte de esta discrepancia, ya que las biopsias pueden no ser necesariamente representativas de todo el tumor[12]. Cuando existe discrepancia entre el grado histológico comunicado en la biopsia y en la muestra de histerectomía, se recomienda revisar la biopsia inicial y tenerla en cuenta a la hora de asignar el grado histológico final, especialmente en los casos en los que la cantidad de tumor en la muestra de histerectomía es muy limitada.

El grado histológico puede ser difícil de evaluar en los casos en que las muestras, especialmente de histerectomia, se fijaron de forma inadecuada y/o el tumor está autolisado. La categoría «no se puede evaluar» debe utilizarse con moderación y sólo en casos en los que existan dudas reales.

**Invasión miometrial**

- No Identificada
- <50 % o >50 % (patrón de invasión no esencial)

La extensión de la invasión miometrial ha sido reconocida como un factor de riesgo importante para la metástasis ganglionar regional y, en algunos estudios, para la supervivencia global en pacientes con CEE en estadio bajo [13]. En consecuencia, es un elemento importante de la mayoría de los sistemas de pronóstico, estadificación, estratificación del riesgo intra y post-operatorio y modelos de toma de decisiones para la terapia adyuvante [4]

En la FIGO 2023, la afectación del miometrio es importante para determinar los tumores en estadio I y II [7]. Se recomienda que la evaluación del porcentaje de miometrio afectado se exprese como el porcentaje del grosor total del miometrio infiltrado por carcinoma utilizando tres categorías: ausencia; <50 %; o ≥50 %.

La evaluación de la invasión tumoral de la adenomiosis es una cuestión controvertida sin pruebas científicas sólidas. La ISGyP establece que «es preferible utilizar el método estándar para determinar la profundidad de invasión, basado en la localización del foco más profundo de carcinoma invasivo en relación con el grosor total del miometrio en esta zona, independientemente de su relación con la adenomiosis [14]. Así, un tumor en el que la única invasión procede de focos adenomiósicos en la mitad externa del miometrio, debe considerarse que afecta a la mitad externa del miometrio y acompañarse de un comentario de que se desconoce la importancia clínica, y que esto puede ser una sobreestimación de la verdadera profundidad de la invasión [4], [7], [14]

Se reconocen varios patrones de invasión miometrial, y puede haber más de un patrón en el mismo caso. Sin embargo, el patrón de invasión miometrial puede documentarse en el informe patológico, pero no es un elemento esencial.

En la mayoría de los casos, determinar la profundidad de la invasión miometrial no plantea ningún problema. Sin embargo, pueden darse una serie de circunstancias que hagan potencialmente problemática esta determinación [15]. La ICCR respalda las recomendaciones de la ISGyP para el manejo de estos escenarios diagnósticos que se resumen a continuación:

- Tumores exofíticos y pólipos endometriales: No es infrecuente que los carcinomas exofíticos contengan haces de músculo liso dentro del estroma que no deben confundirse con el verdadero miometrio a efectos de medir la profundidad de la invasión miometrial. El grosor del tumor, que abarca el componente exofítico de un tumor mioinvasivo, no es sinónimo de profundidad de la invasión miometrial, cuya medición comienza en la unión endomiometrial. En el caso de los tumores que infiltran un pólipo endometrial, son aplicables los mismos planteamientos. En los carcinomas endometriales en general, debe hacerse todo lo posible para presentar al menos una sección que represente cualquier componente exofítico, el componente más mioinvasivo y una unión endomiometrial adyacente no implicada.
- Cuerno uterino y segmento uterino inferior: Dado que el grosor de la pared uterina es más fino en el cuerno, las recomendaciones del ISGyP son que la profundidad de la invasión miometrial no debe medirse en este foco, a menos que el tumor esté totalmente localizado en él, y/o se extienda a la serosa en ese punto. Por el contrario, para los tumores cuya profundidad máxima de invasión miometrial se sitúa en el segmento uterino inferior, las mediciones deben realizarse como se haría en otras zonas del cuerpo uterino.
- Leiomioma: Para los tumores que infiltran un leiomioma, las mediciones deben tomarse como si el leiomioma representara un miometrio no leiomiomatoso. Concretamente, el grosor de la pared del miometrio en el foco de mioinvasión debe incluir el grosor del leiomioma y las mediciones de la profundidad de la invasión del miometrio deben incluir la porción del tumor que invade el leiomioma.

**Invasión linfovascular**

- Indeterminada
- No identificada
- Presente
  - Focal
  - Extensa

La invasión linfovascular (ILV) es un indicador pronóstico importante en el carcinoma endometrial. Se diagnostica cuando hay un émbolo tumoral dentro de un canal revestido de endotelio y debe evaluarse en el frente invasivo del tumor. Hay varias características morfológicas que pueden simular ILV: artefacto de arrastre, pseudoinvasión artefactual secundaria a la disrupción tumoral, invasión miometrial con patrón microquístico alargado y fragmentado (MELF) y artefactos de retracción.

La pseudoinvasión artefactual secundaria a la disrupción tumoral se encuentra predominantemente en el contexto de la cirugía laparoscópica y/o robótica [16]. Los indicios de la presencia de este tipo de artefacto incluyen fragmentos de tumor y, en ocasiones, constituyentes normales alrededor de las superficies de corte de la sección, en grietas de tejido, en vasos grandes, medianos y pequeños, tanto adyacentes al frente invasivo como en localizaciones distantes. A menudo la cantidad de tumor dentro del vaso parece desproporcionada, por ejemplo, en un tumor de bajo grado y estadio. Una fijación adecuada antes de la inclusión suele disminuir el grado de artefacto.

El patrón de invasión tipo MELF también puede simular una ILV. Además, este tipo de invasión se asocia a la ILV, lo que aumenta la complejidad. Por lo general, la distinción entre ambos puede resolverse mediante el conocimiento de este tipo de artefacto y un examen cuidadoso para diferenciar entre el endotelio, por un lado (ILV), y las células tumorales que flotan en un microquiste revestido por un epitelio aplanado y atenuado (invasión tipo MELF), por otro.

La tinción inmunohistoquímica con marcadores endoteliales puede utilizarse a veces para confirmar una sospecha de ILV, especialmente cuando existe un artefacto de retracción extenso, aunque la literatura es inconsistente sobre su valor añadido [14]

Es muy importante distinguir la ILV sustanciaL o extensa de la focal o inexistente [17], [18], [19]. El número de vasos con células tumorales requerido para catalogar la ILV como sustancial está en plena controversia en el momento de redacción de este documento, y oscila etre 3 y 5 vasos en al menos una preparación de las examinadas. La FIGO 2023 recomienda los criterios de la OMS 2020 (extensa ≥5 vasos, focal <5), pero es posible que este criterio varie en la próxima clasificación de la OMS de 2025. Ante esta perspectiva, la guía ESGO-ESTRO-ESP 2025 [2], acepta como ILV extensa un número de vasos afectados superior a 4. De todas maneras, esta discusión es un poco artificial, porque el número de casos que tiene invasión vascular en 3, 4 o 5 vasos es muy modesto, y la mayoría de casos tienen o menos de 3, o más de 5.

La ILV aparece se asocia con metástasis en ganglios linfáticos, recidiva local y a distancia y pobre supervivencia[17], [18]. Por ello, la presencia de una ILV sustancial puede poner de manifiesto la necesidad de un tratamiento adyuvante, como el recomendado en la guía ESGO-ESTRO-ESP de 2020 [4]

El valor indeterminado debe utilizarse con moderación y sólo en los casos en que existan dudas reales sobre la presencia o no de ILV. En tales casos, puede ser útil informar del motivo de una respuesta indeterminada.

**Afectación estroma cervical**

- Indeterminada/ No infiltración/ Infiltración

La invasión del estroma cervical indica carcinoma endometrial en estadio IIA según la FIGO 2023 para tipos histológicos no agresivos (CEE de bajo grado).

La invasión del estroma cervical se asocia a un riesgo significativo de recidiva y es un factor predictivo de metástasis en ganglios linfáticos pélvicos. Sin embargo, se ha cuestionado el papel de la afectación del estroma cervical como factor pronóstico independiente per se [4]. Se asocia a menudo con presencia de otras características adversas, como un alto grado, invasión miometrial profunda e ILV.

**Biopsias peritoneales**

- No infiltración/ Infiltración

La notificación de la afectación peritoneal es un elemento esencial cuando se reciben muestras de biopsia como parte de una estadificación del carcinoma de endometrio. Debe documentarse la localización de las biopsias peritoneales y la presencia o ausencia de afectación tumoral.

Es importante distinguir entre la afectación peritoneal abdominal y pélvica, ya que esto denota un estadio FIGO diferente (IIIB2 para la afectación peritoneal pélvica y IVB para la afectación peritoneal abdominal).

**Afectación parametrial**

- No infiltración/ Infiltración

La mayoría de las histerectomías por cáncer de endometrio son histerectomías simples y no tienen resección parametrial, aunque ocasionalmente se realiza resección parametrial cuando se sospecha invasión del estroma cervical preoperatoriamente (histerectomía radical o radical modificada).

Los carcinomas endometriales con invasión parametrial se estadifican como FIGO 2023 estadio IIIB1 [7]Aunque no es un indicador pronóstico independiente, la afectación parametrial por extensión directa es un factor de mal pronóstico. Se asocia no sólo con la invasión del estroma cervical, sino también con la invasión de la mitad externa del miometrio, metástasis en ganglios linfáticos pélvicos y/o paraaórticos, metástasis ováricas, citología peritoneal positiva e invasión linfovascular [20]

**Afectación vaginal**

- No infiltración/ Infiltración

La afectación vaginal en el momento del diagnóstico es infrecuente (<1 % de los casos) y sitúa la enfermedad en el estadio IIIB1 de la FIGO 2023 [7]. La afectación vaginal se produce por extensión directa desde el cuerpo al cuello uterino y a la vagina o por metástasis a través de vías linfáticas. Es esencial informarla para la estadificación de la enfermedad y el pronóstico.

Es muy poco frecuente que las pacientes presenten extensión vaginal sin metástasis en los ganglios linfáticos o diseminación a otras localizaciones distantes. La tasa de supervivencia en estos casos a 5 años es de aproximadamente el 25 %, con una supervivencia media de 1-2 años [21]

La vagina representa el lugar más frecuente de recidiva del carcinoma de endometrio. En la mayoría de los casos, la recidiva afecta a la parte superior de la vagina, mientras que la recidiva en el tercio medio o distal de la vagina es menos frecuente [22]

**Afectación del epiplón**

- No infiltración/ Infiltración

La omentectomía forma parte del procedimiento quirúrgico de estadificación de algunos cánceres de endometrio de alto grado. La diseminación a omento del carcinoma de endometrio se asocia a una disminución de la supervivencia global. Las metástasis omentales se asocian a otras características

pronósticas adversas, como alto grado tumoral, histología serosa, invasión miometrial profunda, IVL y afectación anexial [4]

La diseminación del carcinoma endometrial al epiplón, ya sea supracólica o infracólica, se considera una metástasis a distancia y sitúa la enfermedad en el estadio IVB de la FIGO (pM1) [4], [7]

**Afectación serosa uterina**

- No infiltración/ Infiltración

De acuerdo con las guías ESGO-ESTRO-ESP[4] e ISGyP [14], el tumor que infiltra todo el grosor del miometrio y alcanza el tejido fibroconectivo submesotelial o la capa mesotelial debe notificarse como afectación serosa. Este criterio ha sido ratificado en el sistema de estadificación FIGO 2023 [7]

La afectación de la serosa (estadio FIGO IIIA2) conlleva un mayor riesgo de recurrencia locorregional que la afectación anexial (estadio FIGO IIIA1) [7]

**Afectación anexial**

- No infiltración/ infiltración

La afectación anexial tiene un impacto en la tasa de supervivencia global [7]. Los anexos afectados deben documentarse, especificando especialmente qué ovario y qué trompa de Falopio están afectados, así como la localización de la afectación tubárica.

A veces es difícil distinguir entre el carcinoma de endometrio con metástasis ováricas y los tumores primarios sincrónicos de endometrio y ovario [23]. En los tumores de alto grado, incluido el carcinoma seroso, la afectación ovárica casi siempre se clasifica como metastásica. Sin embargo, siempre existe la posibilidad de carcinomas serosos primarios independientes coincidentes en el endometrio y la trompa/ovario, aunque esta situación es extremadamente inusual. Además, rara vez se producen metástasis de los anexos al endometrio. Las técnicas inmunohistoquímicas como la tinción para WT1 y p53 y la evaluación de la trompa de Falopio mediante el protocolo de seccionamiento y examen exhaustivo de la fimbria (SEE-FIM) pueden ser útiles [5]

El 5 % de los CEE se asocian a un carcinoma endometrioide de ovario. Los casos con afectación simultánea del endometrio y el ovario por carcinomas endometrioides de bajo grado suelen asociarse a un curso indolente. Los estudios moleculares han demostrado que, en estos casos, existe una relación clonal entre el tumor endometrial y el ovárico, lo que sugiere que el tumor surge en el endometrio y se extiende secundariamente al ovario [24]

En la Clasificación de la OMS de 2020 se sugiere que las pacientes con carcinomas endometrioides sincrónicos en el endometrio y ovario se traten de forma conservadora (como si fueran dos primarios independientes) cuando se cumpla los criterios siguientes: 1) morfología endometrioide de bajo grado en ambas localizaciones, 2) sólo invasión miometrial superficial, 3) ausencia de ILV y 4) ausencia de metástasis adicionales [6]

Se trata de un campo en evolución, y en este momento no está claro porqué un subconjunto de carcinomas endometrioides metastásicos de bajo grado que afectan al endometrio y al ovario se asocian a un buen pronóstico. Las posibles explicaciones son: 1) que la metástasis ovárica clonal se produzca en una fase temprana del proceso de desarrollo del tumor endometrial, permitiendo así que los tumores de cada localización adquieran anomalías moleculares adicionales, a veces distintas; y 2) que las células tumorales sigan una diseminación transtubárica retrógrada, con implantación ovárica, en lugar de una invasión destructiva. Se recomienda discutir estos casos en reuniones multidisciplinares del comité de tumores.

El sistema de estadificación FIGO 2023 adopta los criterios propuestos por la OMS y ESGO-ESTRO-ESP para los carcinomas de endometrio bajo grado con afectación ovárica. De esta forma, establece el estadio IA3 cuando se cumplen los siguientes criterios: 1) sólo invasión miometrial superficial (<50 %), 2) ausencia de ILV sustancial, 3) ausencia de metástasis adicionales, y 4) el tumor ovárico es unilateral, limitado al ovario, sin invasión/ruptura capsular. Los casos que no cumplan estos criterios deben clasificarse como estadio IIIA1 [7].

Aunque existen verdaderos carcinomas endometriales y ováricos simultáneos independientes, son relativamente infrecuentes y pueden ocurrir en el contexto del síndrome de Lynch [24]. En este escenario, pueden representar carcinomas endometrioides sincrónicos de endometrio y ovario o un carcinoma endometrioide de endometrio puede coexistir con un carcinoma ovárico de células claras.

Es importante recordar que la presencia de ILV en los vasos hiliares o parenquimatosos del ovario o en los vasos tubáricos sin invasión estromal no afecta al estadio.

La afectación tumoral de la trompa de Falopio también debe registrarse. Es importante destacar que la presencia de agregados desprendidos de células tumorales en la luz tubárica, sin afectación de la pared, no debe considerarse afectación tubàrica [16] ya que se cree que es un artefacto relacionado con el tipo de cirugía realizada y/o la fijación de la muestra. Sin embargo, la presencia de células de carcinoma seroso en el lumen de la trompa de Falopio puede asociarse a metástasis peritoneales [14]. La presencia de células tumorales flotantes en el lumen de la trompa de Falopio no debe conducir a un aumento de la estadificación del tumor, aunque esto debe motivar una revisión cuidadosa de los lavados peritoneales/pélvicos, si se realizan.

La afectación tubárica por carcinoma seroso, con o sin invasión estromal, suele ser una manifestación de carcinoma seroso metastásico. Los estudios han demostrado que el carcinoma seroso endometrial se extiende con frecuencia a la trompa de Falopio, dando lugar a una lesión que puede ser indistinguible del carcinoma seroso intraepitelial tubárico (STIC). También existe la posibilidad de que un STIC pueda ser el nido del que se desprenden las células del carcinoma seroso y se implantan en el endometrio, simulando un carcinoma seroso endometrial primario y la posibilidad de la presencia coincidente de un carcinoma seroso endometrial y un STIC primario. En este último caso la evaluación de la expresión de WT1 puede ser útil. WT1 es negativo en la mayoría de los carcinomas serosos endometriales primarios, aunque una proporción significativa es positiva, sin embargo, WT1 es positivo en casi todos los carcinomas serosos de ovario o de trompa de Falopio.

Los carcinomas endometriales metastásicos a la pared de la trompa de Falopio o a su serosa deben interpretarse como metastásicos a menos que existan pruebas de un origen sobre endometriosis.

**Estado de márgenes**

- Partes blandas paracervicales
  - Afectación/no afectación/ indeterminado
- Exocervical/ margen vaginal
  - Afectación/no afectación/ indeterminado

El término tejido blando paracervical hace referencia a la pequeña parte del parametrio que se incluye en las muestras de histerectomía simple, que es el procedimiento quirúrgico habitual para el carcinoma endometrial.

La afectación vaginal (extensión directa o metástasis) o parametrial por carcinoma endometrial se estadifica actualmente como IIIB [7]. El estado de margen positivo se ha identificado como un factor de riesgo de recidiva local y mortalidad, y las pacientes con márgenes positivos tienen más probabilidades de recibir un refuerzo de braquiterapia de cúpula vaginal [25]. La ILV en el margen de resección cervical/parametrial/vaginal no se considera un margen positivo.

Los márgenes cervicales/parametrales/vaginales cercanos pueden indicar un mayor riesgo de recidiva y pueden tenerse en cuenta para la radioterapia adyuvante. Sin embargo, no existen criterios sobre la distancia a los márgenes que se consideraría cercana. La distancia a los márgenes es un elemento no esencial de notificación. Cuando se comunique, la distancia a los márgenes debe indicarse en mm.

**Ganglios linfáticos**

El estado de los ganglios linfáticos es un importante factor pronóstico del carcinoma de endometrio y su evaluación es crucial para determinar tanto el estadio como el tratamiento adyuvante adecuado. Según la FIGO 2023, la afectación metastásica de los ganglios linfáticos aumenta el estadio del tumor (IIIC1 y IIIC2 para los ganglios pélvicos y paraaórticos, respectivamente) [7].

Los ganglios linfáticos resecados se clasifican en regionales (paracervicales, parametriales, ganglios linfáticos pélvicos incluidos los obturadores, ilíacos internos, comunes o externos, sacros, presacros y laterales, y paraaórticos) o no regionales (inguinales y otros). Cabe señalar que la afectación de ganglios linfáticos no regionales (incluidos los ganglios inguinales) se consideran metástasis a distancia.

Los elementos básicos relativos al estado de los ganglios linfáticos incluyen el número de ganglios linfáticos identificados de las distintas localizaciones, el número de ganglios linfáticos afectados y el tamaño de la metástasis mayor (diámetro máximo en mm). También pueden registrarse otros parámetros como la diseminación extraganglionar. La diseminación extraganglionar es un elemento no esencial.

FIGO 2023 se alinea con los sistemas de estadificación TNM 8ª edición [7], [26]. El estadio IIIC se divide a su vez en micrometástasis (0,2 a 2 mm y/o >200 células) (IIIC1i, IIIC2i) y macrometástasis (>2 mm) (IIIC1ii, IIIC2ii), mientras que las células tumorales aisladas (hasta 0,2 mm y ≤200 células) no se consideran metastásicas, no se incluyen en FIGO 2023 y en TNM se consideran pN0(i+). La presencia de micrometástasis ganglionares se asocia a un peor pronóstico, sobre todo en pacientes que no reciben tratamiento adyuvante [27]. No existen pruebas de que la presencia de células tumorales aisladas tenga implicaciones pronósticas.

El examen macroscópico de los ganglios linfáticos es un paso importante para una evaluación histológica exhaustiva. Los ganglios linfáticos de hasta 2 mm se incluyen enteros. Si los ganglios linfáticos miden más de 2 mm, deben cortarse perpendicularmente al eje largo a intervalos de 2 a 3 mm e incluirse enteros.

Múltiples estudios confirman la alta sensibilidad del enfoque del ganglio linfático centinela para determinar el estado de los ganglios linfáticos en el carcinoma de endometrio en estadio temprano y subrayan el valor de la biopsia de ganglio centinela en la selección de enfoques terapéuticos [28]. Además, la biopsia del ganglio centinela se asocia a un riesgo sustancialmente menor de morbilidad postoperatoria, especialmente linfedema en la parte inferior de la pierna, ya que se evita la disección de otros ganglios linfáticos pélvicos [29]

Según la guía ESGO-ESTRO-ESP de 2020, la biopsia del ganglio linfático centinela puede considerarse con fines de estadificación en pacientes con enfermedad de riesgo bajo/intermedio y puede omitirse en los casos sin invasión miometrial. No se recomienda la linfadenectomía sistemática para estos carcinomas debido a la morbilidad asociada al procedimiento y a la baja incidencia de ganglios positivos. Para los carcinomas de alto riesgo y intermedio/alto en los estadios I/II, debe realizarse una estadificación quirúrgica de los ganglios linfáticos y la biopsia del ganglio linfático centinela es una alternativa aceptable a la linfadenectomía sistemática [4]

Se recomienda ultraestadificación para el análisis de los ganglios centinela que son negativos en el examen inicial con H&E. En particular, si los ganglios centinela son negativos en la ultraestadificación, es muy poco probable que se produzca una metástasis paraaórtica ganglionar aislada [4]

Se han publicado varios protocolos de ultraestadificación del ganglio centinela, pero no existe una técnica universalmente consensuada. Los protocolos existentes consisten en realizar cortes adicionales a intervalos definidos y teñirlos con H&E y panqueratinas. Aunque la guía ESGO-ESTRO-ESP de 2025 no recomienda ningún protocolo de ultraestadificación preciso, de forma orientativa se comenta que la obtención de la sección inicial, y dos niveles (con H&E y panqueratinas) separados por 50 um, sería un procedimiento que combinaría eficacia y coste-efectividad.

Existe creciente interés en relación al uso de la tecnología OSNA en el análisis del ganglio centinela, aunque la evidencia científica, especialmente en relación con estudios prospectivos, es aún escasa. La tecnología OSNA permite estudiar la totalidad del ganglio linfático, mientras que el volumen estudiado en los protocolos de ultraestadificación es modesto. Las principales dudas están en la interpretación incorrecta de las inclusiones müllerianas benignas y focos de endosalpingiosis como micrometástasis, y la imposibilidad de valorar la extrensión tumoral extraganglionar. OSNA requiere que el tumor sea positivo para citoqueratina 19.

**Clasificación molecular**

Hasta ahora, el diagnóstico y la clasificación del carcinoma de endometrio se han basado en gran parte en el aspecto microscópico de los tumores, a menudo complementado por inmunohistoquímica. El diagnóstico microscópico del carcinoma endometrial es reproducible en la mayoría de. los casos, en particular entre los tumores de bajo grado, que representan el 70 % de los casos, pero existe una considerable variabilidad interobservador en un subconjunto de carcinomas de alto grado, un grupo con características moleculares que se solapan. De ahi que se haya pasado de una clasificación clínica tradicional y morfológica (Bokhman) a una clasificación que incorpora un enfoque basado en rasgos moleculares.

Esta transformación, ha sido mpulsada por The Cancer Genome Atlas (TCGA) [30] que en 2013, realizó la caracterización genómica, transcriptómica y proteómica integrada de los carcinomas de endometrio y reveló la existencia de cuatro grupos moleculares pronósticos:

- *Carcinomas POLE Mutados o ultramutados*: (5-10 %) se caracterizan por tener mutaciones patogénicas somáticas, inactivadoras de hotspots, en el dominio de la exonucleasa de la ADN polimerasa Epsilon (*POLE*) y una carga mutacional muy elevada (frecuentemente >100mutaciones/MB). Esta elevada carga mutacional se traduce una heterogeneidad morfológica, en una gran variedad de patrones histológicos. pueden simular carcinomas serosos y/o de células claras y a su vez en un incremento de linfocitos intratumorales (TILS), consecuencia de una mayor de activación de celulas T derivada de el elevado nivel de neoantigenos que presentan estos tumores. Suelen tener características histomorfológicas desfavorables como alto grado, invasión linfovascular y/o invasión miometrial profunda. Los CEE G3 están muy representados en este grupo. Aún así, independientemente del grado, este grupo de tumores tiene un pronóstico excelente (>96 % supervivència a los 5 años). Sin embargo, existe un 4 % que pueden progresar.
- *Carcinomas p53 anormal o con alta alteración en el número de* copias (aproximadamente el 26 %) presentan una baja tasa de mutacional, mutaciones *TP53* (95 %) y un pronóstico muy desfavorable. Pertenecen a este grupo los carcinomas serosos, hasta un 25 % de los CEE (sobre todo de alto grado), algunos carcinomas de células claras y la mayoría de los carcinosarcomas.

Dos grupos que muestran tasas de supervivencia libre de progresión similares e intermedias. Se tratan de dos grupos heterogéneos, presentan subgrupos de tumores definidos genómicamente, algunos de ellos con un pronóstico favorable y otros desfavorable:

- *Carcinomas con inestabilidad de microsatélites (MSI) o hipermutados*: (30 %) con deficiencia de proteínas reparadoras del DNA (MMRd) y frecuentemente con hipermetilación del promotor de MLH1 y alta tasa mutacional.

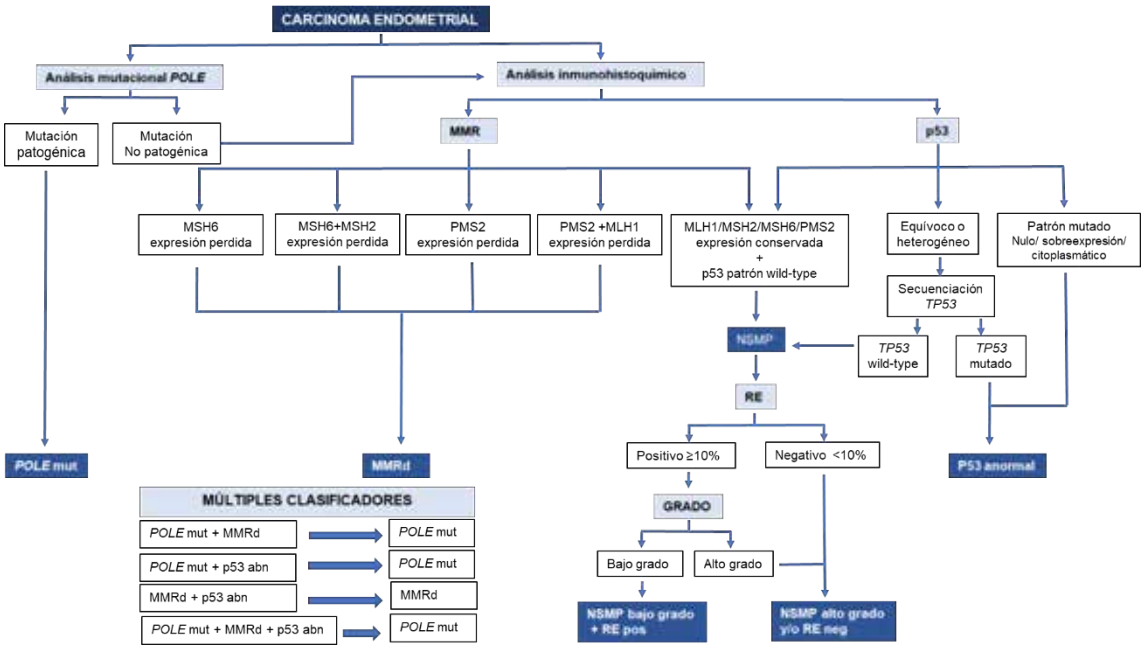
- *Carcinomas con baja alteración del número de copias o sin perfil molecular* específico (NSMP) constituyen aproximadamente el 39 % de los carcinomas endometriales. Tienen una baja carga mutacional y carecen de mutaciones *POLE*, ni *TP53* y no son MSI.

**Aplicabilidad de la clasificación molecular. Algoritmo subrogado**

En un intento de trasladar la clasificación molecular basada en el TCGA a la práctica clínica, diferentes grupos han propuesto un algoritmo subrogado con valor pronóstico que incluye tres marcadores inmunohistoquímicos (p53, MSH6 y PMS2) y una prueba molecular (análisis de mutación de *POLE*) [31].

La guía ESGO-ESTRO-ESP de 2025[2], recomienda realizar la clasificación molecular completa (estudio mutacional de *POLE* e inmunohistoquímica de proteínas reparadoras MMR y p53, además de receptores de estrógenos (RE) en todos los casos de cáncer de endometrio (Figura 1). En áreas con dificultades económicas y técnicas para realizar el estudio mutacional de *POLE*, éste podría ser omitido en los CEE de bajo grado y bajo riesgo, en los que su implicación terapéutica es más modesta.

**Figura 1.** Actualización algoritmo de clasificación molecular del carcinoma endometrial (2).




La caracterización molecular es recomendable realizarla en el material de biopsia o legrado endometrial. Según este algoritmo, los tumores con mutación patogénica *POLE* corresponden a tumores ultramutados. La expresión anormal de MSH6 o PMS2 define los tumores del grupo hipermutado. La expresión anormal de p53 (patrón mutado), caracteriza al grupo de carcinomas con alto número de copias. Por último, el NSMP se define por la ausencia de mutación *POLE* y un patrón de expresión conservado de MSH6, PMS2 y p53.

**Estudio de RE**: Se recomienda evaluar RE en todos los carcinomas endometriales, ya que es útil desde el punto de vista diagnóstico y además permite estratificar los carcinomas NMSP en dos subgrupos pronósticamente distintos, bajo riesgo RE≥ 10 % y alto riesgo RE<10 % [32], [33].

**El análisis mutacional de *POLE***: Debe cubrir las 11 variantes patogénicas *(Tabla 2)* ubicadas en los exones 9, 11, 13 y 14 del dominio exonucleasa de la ADN polimerasa epsilon *(POLE*). Puede realizarse mediante secuenciación o técnicas alternativas de PCR. Es necesario enfatizar que otras variantes *POLE* no tienen un impacto pronóstico.

**Tabla 2.** Variantes patogénicas del gen *POLE*.

| MUTACIONES PATOGÉNICAS | |
|---|---|
| CAMBIO PROTEICO | SUSTITUCIÓN NUCLEOTIDOS |
| P286R | c.857C>G |
| V411L | c.1231G>T/C |
| S297F | c.890C>t |
| S459F | c.1376C>t |
| A456P | c.1366G>C |
| F367S | c.1100T>C |
| L424I | c.1270C>A |
| M295R | c.884T>A |
| P436R | c.1307C>G |
| M44K | c.1331T>A |
| D368Y | c.1102G>T |

**El estudio p53**: Un patrón de expresión anormal (mutado) sirve como marcador subrogado del estado de mutación del gen *TP53*. Los patrones anormales son 1) Sobreexpresión (positividad nuclear fuerte y difusa) en al menos el 80 % de las células tumorales debido a una mutación *missense*; 2) Tipo nulo (ausencia completa de reactividad nuclear y citoplasmática) surgen debido a una variedad de mecanismos, incluyendo inserciones, deleciones, mutaciones sin sentido o frameshift del gen *TP53*. Es importante asegurarse de que las células de control positivo interno (linfocitos, células no neoplásicas) están presentes y muestran tinción; 3) Tinción citoplasmática con o sin reactividad nuclear, a menudo como resultado de una mutación en el dominio de localización nuclear que no permite a p53 entrar en el núcleo, lo que resulta en la pérdida de función.

La expresión de p53 equívoca o heterogénea debe complementarse con la secuenciación de *TP53*. El patrón anormal (mutado) de p53 se observa generalmente en todo el tumor. En ocasiones, este patrón es subclonal, y esto se observa más frecuentemente en los tumores que están mutados en *POLE*, o los que tienen inestabilidad de microsatélites, y en estas circunstancias este patrón de p53 no tiene valor pronóstico. Cuando el patrón subclonal de p53 se observa en un tumor que no tiene mutaciones de *POLE* o inestabilidad de microsatélite, el tumor se clasifica como p53 anormal cuando este patrón representa más del 10 % o carcinoma de perfil molecular no específico cuando es menos del 10 %.

El patrón de reactividad wild-type denota una tinción nuclear de intensidad variable, normalmente en asociación con el gen *TP53* no mutado. Cabe destacar que se ha demostrado que el 4 % de los carcinomas serosos de alto grado muestran un patrón de expresión p53 de tipo wild-type en la inmunohistoquímica, mientras que albergan una mutación de pérdida de función en el gen *TP53*. Para evitar confusiones, la expresión immunohistoquímica de p53 debe informarse como wild-type o anormal con el patrón de expresión anormal entre paréntesis. También puede especificarse el estado de mutación del gen *TP53* si se conoce.

Se ha descrito un patrón p53 subclonal anormal en hasta el 21 % de los carcinomas endometriales, lo que suele sugerir un evento mutacional secundario en el contexto de una deficiencia de proteínas MMR o mutaciones *POLE*. Además, el patrón p53 subclonal anormal puede indicar un carcinoma mixto (seroso y endometrioide, o seroso y de células claras). La correlación entre la expresión de la proteína p53 y las características morfológicas puede ayudar a identificar un carcinoma mixto.

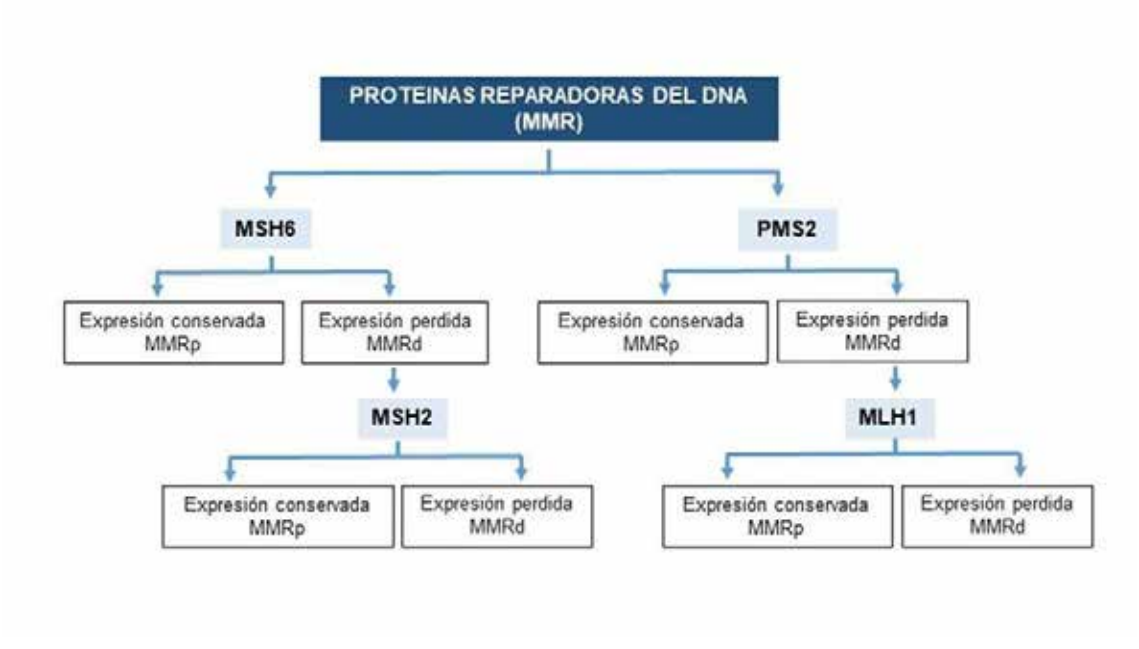
Es importante ser consciente de que un pequeño subconjunto de CEE de bajo grado en estadio I alberga mutaciones *TP53* y se caracteriza por un mayor riesgo de recurrencia.

**El estudio de las proteínas reparadoras del DNA MMR**: Es importante por cuatro razones: A nivel diagnóstico, ya que se considera un marcador de carcinomas endometrioide; de cribado para identificar posibles pacientes con síndrome de Lynch; a nivel pronóstico, tal y como se identifica en el TCGA y como biomarcador predictivo de la posible utilidad de la terapia con inhibidores de puntos de control inmunitarios [34].

La ISGyP recomienda determinar el estado MMR/MSI en todos los carcinomas endometriales (preferiblemente legrados o biopsias), independientemente de la edad [35]. Puede detectarse mediante diferentes métodos, incluidos los basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la secuenciación de nueva generación (NGS). La inmunohistoquímica es técnica más rentable. La ISGyP la recomienda como la mejor prueba para identificar la deficiencia de proteínas MMR e, indirectamente, para MSI [35]. Consiste en la inmunotinción con las cuatro proteínas MMR del ADN: MLH1, PMS2, MSH2 y MSH6. Una alternativa es utilizar sólo PMS2 y MSH6, añadiendo MLH1 cuando se pierde PMS2, y MSH2 cuando se pierde MSH6 (Figura 2).

En casos que han sido sometidos a condiciones preanalíticas deficientes, como una fijación inadecuada o tardía la inmunohistoquímica puede no ser informativa. Además, en ocasiones existen anomalías genéticas de línea germinal que no dan lugar a una expresión anómala de las proteínas MMR. En ambos casos, las técnicas basadas en PCR para evaluar la MSI pueden ser apropiadas, especialmente cuando los antecedentes familiares son altamente sospechosos de síndrome de Lynch.

**Figura 2.** Algoritmo del estudio immunohistoquímico de proteínas de reparación del DNA (MMR).




En los carcinomas que muestran pérdida de expresión de MLH1 y PMS2 debe estudiarse la hipermetilación del promotor de MLH1, ya que su presencia excluye esencialmente el síndrome de Lynch (Figura 3). Este análisis de metilación podría sustituirse por el marcador inmunohistoquímico EPM2AIP [36]. Las pacientes con cáncer de endometrio cuyos tumores presentan MMRd, pero no metilación en el promotor de MLH1, deben someterse a consejo genético y considerar la posibilidad de realizar pruebas en la línea germinal.

**Figura 3.** Algoritmo diagnóstico para la identificación de pacientes con Sdr. de Lynch.

IDENTIFICACIÓN SDR. LYNCH
Inmunohistoquímica MMR
- MSH6 (+/- MSH2)
- PMS2 (+/- MLH1) ( MSI casos seleccionados)
MSH2, MSH6 o sólo PMS2 expresión perdida
MLH1 o MLH1/PMS2 expresión perdida
Análisis de metilación MLH1
No hipermetilado
Hipermetilado
Análisis de mutación germinal

El cáncer de endometrio es uno de los tumores más frecuentes en pacientes con síndrome de Lynch [37]. Alrededor del 3 % de todos los carcinomas de endometrio y aproximadamente el 10 % de los carcinomas de endometrio con deficiencia de MMR (MMRd)/MSI están relacionados causalmente con mutaciones de la línea germinal de uno de los genes MMR MLH1, PMS2, MSH2 y MSH6 o de un gen relacionado, EPCAM. La identificación del síndrome de Lynch en mujeres con carcinoma endometrial puede conducir a la prevención de un segundo cáncer en la paciente y a la prevención de cánceres en los miembros de la familia mediante estrategias de reducción del riesgo y una mayor vigilancia.

Menos del 5 % de los carcinomas endometriales muestran una combinación de variantes patogénicas *POLE* y/o deficiencia MMR con p53 aberrante, lo que se denomina «clasificadores múltiples»[38]. Estos tumores se comportan de forma similar a los carcinomas endometriales *POLE* mutados y a los carcinomas con deficiencia de las proteínas MMR, respectivamente, y, por tanto, se categorizan en consecuencia. En combinación con la deficiencia de MMR y/o mutaciones de *TP53*, las variantes patogénicas de *POLE* se consideran impulsores genómicos, al igual que la deficiencia de MMR en los casos de combinación con *TP53* mutada sin la mutación en *POLE*. En estos tumores, últimos la mutación de *TP53* se considera una mutación pasajera.

**FIGO 2023**

La estadificación patológica debe figurar en el informe patológico y, por lo tanto, es un elemento esencial. Se recomienda utilizar la estadificación FIGO 2023 *(Tabla 3)* y seguir informando la FIGO 2009 ya que ensayos clínicos y estudios de investigación aún vigentes utilizan este último estadiaje.

**Tabla 3.** Estadiaje del cáncer de endometrio FIGO 2023.

| FIGO | DESCRIPCIÓN | |
|---|---|---|
| **I** | **Confinado al útero y ovario** | |
| **IA** | Enfermedad limitada al endometrio o tipo histológico no agresivo con infiltración de <50% del miometrio con ausencia o focal ILV<br><br>**IA1** Tipo histológico no agresivo limitado al endometrio o a un pólipo endometrial<br>**IA2** Tipo histológicos no agresivo afectando a <50 miometrial sin o con ILV focal<br>**IA3** Carcinomas endometrioides de bajo grado limitados al útero y ovario*<br><br>*Criterios: Afectación unilateral y sin rotura capsular, no ILV extensa, infiltración miometrial <50%, carcinomas endometrioides de bajo grado, no metástasis adicionales | |
| **IB** | Tipos histológicos no agresivos con invasión ≥ 50% miometrial sin o con ILV focal | |
| **IC** | Tipos histológicos agresivos limitados a pólipo o endometrio | |
| **II** | **Invasión del estroma cervical sin extensión extrauterina o con ILV extensa o tipo histológico agresivo con invasión miometrial** | |
| **IIA** | Invasión del estroma cervical de tipos histológicos no agresivos | |
| **IIB** | ILV extensa en tipos histológicos no agresivos | |
| **IIC** | Tipos histológicos agresivos con cualquier infiltración miometrial | |
| **III** | **Extensión local y/o regional del tumor de cualquier tipo histológico** | |
| **IIIA** | Invasión de serosa uterina, anejos o ambos por extensión directa o metástasis<br>**IIIA1** Extensión a ovario o trompa ( excepto si se cumplen los *criterios para estadio IA3)<br>**IIIA2** Afectación de subserosa uterina o extensión a través de serosa uterina | |
| **IIIB** | Metástasis o extensión directa a vagina y/o parametrio o peritoneo pélvico<br>IIIB1 metástasis o extensión directa a vagina y/o parametrio<br>IIIB2 metástasis a peritoneo pélvico | |
| **IIIC** | **IIIC1** Metástasis a ganglios pélvicos<br>IIIC1i micrometástasis<br>IIIC1ii macrometástasis | **IIIC2** Metástasis a ganglios para-aórticos hasta venas renales, con o sin metástasis de ganglios pélvicos<br>IIIC2i micrometástasis<br>IIIC2ii macrometástasis |
| **IV** | **Extensión a mucosa de vejiga y/o intestinal y/o metástasis a distancia** | |
| **IVA** | Invasión de mucosa de vejiga y/o intestinal | |
| **IVB** | Mestástasis peritoneal abdominal extrapélvica | |
| **IVC** | Metástasis a distancia, incluyendo metástasis a cualquier ganglio extra- o intra-abdominal por encima de las venas renales, pulmones, hígado, cerebro o hueso | |

FIGO 2023 fomenta la realización de la clasificación molecular completa en todos los carcinomas endometriales para la estratificación pronóstica de grupos de riesgo y como posible factor de influencia para las decisiones de tratamiento adyuvante y sistémico [7]. Aunque no es obligatorio para una estadificación adecuada, la identificación de mutaciones *POLE* y anomalías p53ab resulta en un aumento o disminución de la estadificación de la enfermedad cuando se realiza la clasificación molecular en tumores en estadios I y II. Para los estadios FIGO I y II, basados en hallazgos quirúrgicos/anatómicos e histológicos, el estadio FIGO se modifica cuando la clasificación molecular revela *POLE*mut o p53abn. Esto se representa en el estadio FIGO mediante la adición de «m» para la clasificación molecular, y se añade un subíndice para denotar el estado *POLE*mut o p53abn *(Tabla 4)*. Los estados MMRd o NSMP no modifican los estadios FIGO tempranos; sin embargo, estas clasificaciones moleculares deben registrarse a efectos de recopilación de datos. Las características moleculares en los estadíos III y IV no producen cambios, pero los casos para los que se conoce la clasificación molecular deben registrarse como estadio IIIm y estadio IVm con especificación de la clase molecular.

**Tabla 4.** Estadiaje FIGO 2023 con clasificación molecular.

| ESTADIO | Hallazgos moleculares en pacientes con cáncer endometrial estadio temprano (I y II después de estadiaje quirúrgico) |
|---|---|
| IAm $_{POLEmut}$ | Carcinoma endometrial *POLE* mut confinado al útero o con extensión cervical, a pesar del grado de ILV o tipo histológico |
| IICm $_{p53abn}$ | Carcinoma endometrial p53 anormal confinado al útero con cualquier invasión miometrial, con o sin invasión cervical y a pesar del grado de ILV o tipo histológico |

## ELEMENTOS NO ESENCIALES

### Información clínica

A pesar de no ser un elemento esencial, puede ser relevante para la interpretación patológica, como en los casos de Sdr. Lynch, otros síndromes hereditarios o historia previa de cáncer, terapia neoadyuvante u hormonal.

### Localización tumoral

- Itsmo/segmento inferior uterino
- Fundus
- Cuerpo
- Otro

El carcinoma endometrial que afecta al segmento uterino inferior tiene varias implicaciones. Los tumores en esta localización se asocian con mayor frecuencia a deficiencias de las proteínas MMR. Además, la afectación del segmento uterino inferior en el carcinoma endometrial precoz predice metástasis en ganglios linfáticos y es un factor independiente de mal pronóstico para la recidiva a distancia y muerte [14]

### Dimensión tumoral máxima

Es recomendable informar el tamaño mayor, determinado por valoración macro o microscópica o ambos.

### Citología peritoneal

La citología peritoneal positiva ya no forma parte del sistema de estadificación FIGO, pero los resultados de la citología peritoneal pueden proporcionar una estratificación del riesgo.

### Endometrio no tumoral

- Atrófico/ Hiperplasia sin atipía/ Hiperplasia atípica/ Otro

El background endometrial no tumoral puede proporcionar información útil sobre la patogénesis del tumor.

### Otros marcadores: HER 2

Her-2 es un marcador inmunohistoquímico de valor pronóstico y predictivo. La sobreexpresión y/o amplificación génica de la proteína HER2 se ha descrito en el 30 % de los carcinomas serosos endometriales, el 16 % de los carcinosarcomas y el 48 % de los tumores diagnosticados como carcinoma de células claras. El estado de HER2 parece estar asociado a una expresión anómala de p53 [39]. Por lo tanto, las guías actuales de la National Comprehensive Cancer Network recomiendan la prueba HER2 en los carcinomas serosos de endometrio y en los carcinosarcomas, y considerar la prueba en todos los carcinomas con expresión p53 anormal, independientemente del histotipo [40]

En el momento de escribir este documento existen dos fármacos anti HER-2 que están en proceso de aprobación, que son Trastuzumab y Trastuzumab-Deruxtecan (T-DXd). Como veremos a continuación, los criterios de valoracion de la expresión de HER2 varian en función del fármaco que se

prescribe (Trastuzumab y T-DXd), ya que los ensayos clínicos que validaron estos fármacos fueron realizados con sistemes de valoración diferentes.

Se ha demostrado que el trastuzumab en combinación con quimioterapia mejora la supervivencia libre de progresión y la supervivencia global en los carcinomas endometriales serosos HER2-positivos en estadio avanzado y recurrentes en un ensayo clínico aleatorizado de fase II NCT01367002 [41], [42]. Basándose en los criterios de inclusión de pacientes en este ensayo, se propuso un algoritmo de prueba de HER2 específico para el cáncer de endometrio altamente reproducible, que se basa en el punto de corte del 30 % para la sobreexpresión de la proteína HER2 mediante inmunohistoquímica. Este algoritmo de prueba tiene una concordancia del 98 % con las últimas guías de la Sociedad Americana de Oncología Clínica/Colegio de Patólogos Americanos (ASCO/CAP) para el cáncer de mama para el estado final de HER2 [43]

A diferencia de los patrones observados en el carcinoma de mama, la tinción de HER2 en el carcinoma de endometrio es a menudo lateral o basolateral y no afecta a la porción apical de las células tumorales. Con frecuencia se observa una tinción heterogénea que denota una diferencia de al menos dos grados en la intensidad de la tinción en más del 5 % del tumor [43]

Para determinar la elegibilidad para trastuzumab, el CAP sugiere informar de los resultados de HER2 utilizando los criterios de inclusión para el ensayo clínico NCT01367002 *(Tabla 5)*. Los tumores con resultados equívocos (2+) en inmunohistoquímica se someten a FISH para el uso de Trastuzumab *(Tabla 6)*. La heterogeneidad en la amplificación de HER2 debe notificarse cuando esté presente. El tipo de amplificación puede verse como «clusters» grupos de 20 o más células o como «mosaico» células aisladas amplificadas.

**Tabla 5.** Resultados inmunohistoquímicos Her-2 para el uso de Trastuzumab basado en criterios de inclusión de EC fase II NCT01367002.

| RESULTADO | CRITERIOS ESPÉCIMEN QUIRÚRGICO |
|---|---|
| **NEGATIVO (Score 0)** | Tinción negativa |
| **NEGATIVO (Score 1+)** | Tinción débil incompleta de membrana en cualquier % de cel o débil completa en < 10 % células tumorales |
| **EQUÍVOCO (Score 2+)*** | Tinción de intensa completa, lateral o basolateral de membrana en ≤30 % células tumorales o de débila moderada en ≥10 % |
| **POSITIVO (Score 3+)** | Tinción intensa completa o basolateral/lateral de membrana > 30 % células tumorales |

*Hacer test de hibridación in situ.

**Tabla 6.** Resultados FISH Her-2 para el uso de Trastuzumab.

| RESULTADO | CRITERIO |
|---|---|
| **NEGATIVO** | HER2/CEP17 <2 y número medio de copias de HER2 de < 6 |
| **POSITIVO** | HER2/CEP17 ≥2 o un HER2/CEP17 <2 con número medio de copias de HER2 de ≥6 |

En el caso de T-DXd, el ensayo DESTINY-PanTumor02 (NCT04482309) demostró recientemente que T-DXd mejora la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global en pacientes con múltiples tipos de tumores, siendo los tumores HER2 3+ en inmunohistoquímica los que presentan mayores beneficios. Las tasas de respuesta objetiva más elevadas se observaron en carcinomas ginecológicos de todos los tipos tumorales (57,5 % en endometrio, 50 % en cuello uterino y 45 % en ovario) [44]. Además, el ensayo STATICE demostró que T-DXd es eficaz en carcinosarcomas, con una tasa de respuesta

objetiva del 54,5 % en los casos con al menos HER2 2+ en inmunohistoquímica y del 70 % en los casos con HER2 1+ [45]

Para determinar la elegibilidad para T-DXd, el CAP sugiere informar de los resultados de de HER2 utilizando los criterios de inclusión para el ensayo clínico DESTINY-PanTumor02 (NCT04482309), basados en los criterios de valoración de HER2 en cáncer gástrico. *(Tabla 7)*.

**Tabla 7.** Resultados inmunohistoquímicos Her 2 para el uso de T-DXd basado en criterios de inclusión de EC DESTINY- Pantumor02 (NCT04482309)

| RESULTADO | CRITERIOS ESPÉCIMEN QUIRÚRGICO | CRITERIOS BIOPSIA |
|---|---|---|
| **NEGATIVO (Score 0)** | Tinción negativa o de membrana en <10 % células tumorales | Tinción negativa en todas las células tumorales |
| **NEGATIVO (Score 1+)** | Tinción débil incompleta de membrana en ≥10 % células tumorales | Cluster* con tinción débil de membrana independientemente del % células tumorales positivas |
| **EQUÍVOCO (Score 2+)** | Tinción de débil a moderada completa de membrana, laterala o basolateral en ≥10 % células tumorales | Cluster* con tinción de débil a moderada completa, basolateral o lateral de membranta independientemente del % cel tumorales |
| **POSITIVO (Score 3+)** | Tinción intensa completa de membrana, lateral o basolateral ≥ 10 % células tumorales | Cluster* con tinción intensa completa, basolateral o lateral de membranta independientemente del % células tumorales |

Cluster*: ≥5 células tumorales

DESTINY-PanTumor02 se basó únicamente en el estado de HER2 por inmunohistoquímica y no incluyó resultados de FISH para casos equívocos (2+). La FISH no está indicada actualmente en los tumores que se están analizando para el uso de T-DXd.

# Recomendaciones en el diagnóstico del carcinoma de cérvix

**Natalia Rakislova[1,2], Jaume Ordi[1,2,] Adela Saco[1,3]**

1. *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínic de Barcelona*
2. *Instituto de Salud de Barcelona (ISGLOBAL)*
3. *Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer, Barcelona (IDIBAPS)*

## INFORMACIÓN CLÍNICA

Es necesario disponer de información clínica relevante de la paciente, especialmente a lo referente a:

- Información clínica previa incluyendo biopsias y citologías, y antecedentes de otras neoplasias
- Tratamiento quimio o radioterápico previo: este es habitual en pacientes con estadios clínicos avanzados y puede reducir significativamente el tamaño original del tumor, o incluso hacerlo desaparecer.[1] Asimismo, puede inducir cambios morfológicos en el tumor como la presencia de células tumorales gigantes multinucleadas o células degeneradas
- Tratamiento quirúrgico previo (p. ej. conización cervical): relevante para la estadificación y clasificación final del tumor, pues el tipo histológico y el tamaño de la lesión pueden verse modificados

## PIEZA QUIRÚRGICA

Las piezas quirúrgicas recibidas más frecuentemente son la traquelectomía, la histerectomía (estas dos últimas pueden ser radicales o simples, en función de si incluyen parametrios o no), las exenteraciones pélvicas y la conización cervical. En el caso de los ganglios linfáticos, estos suelen recibirse separados por grupos anatómicos. **Tanto el tipo de pieza quirúrgica como la localización de los ganglios linfáticos deben de encontrarse especificados en el informe.**

## DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA DE LA MUESTRA

### Medida de la muestra

El cérvix es una estructura cilíndrica por lo que la medición puede resultar dificultosa. En las piezas de conización y las traquelectomías se recomienda medir los diámetros mayor y menor del exocérvix y la longitud del canal cervical. Si existe un manguito vaginal se recomienda medir la longitud craneo-caudal máxima y mínima. En los casos en los que se haya realizado resección de parametrios, estos deben medirse desde el lado uterino hasta el margen lateral (esta medida puede verse alterada tras la fijación en formol de la pieza). Las medidas deben realizarse de forma precisa y usando siempre la misma unidad, recomendándose realizarla en milímetros. [2]

### Tamaño del tumor

La importancia de una correcta medida del tumor radica en sus implicaciones pronósticas, puesto que es un criterio fundamental para establecer de forma adecuada el estadio I de la FIGO (ver más detalles en microscopía) (Tabla 1). [3], [4]

**Tabla 1.** Clasificación FIGO (2018) de cáncer de cuello uterino

| Estadio | | | Descripción |
|---|---|---|---|
| **I** | | | Carcinoma confinado a cérvix (sin considerar la invasión de cuerpo uterino) |
| | **IA** | | Carcinoma diagnosticado por microscopía, con invasión máxima ≤5 mm[a] |
| | | **IA1** | Invasión de estroma ≤3 mm |
| | | **IA2** | Invasión de estroma >3 mm y ≤5mm |
| | **IB** | | Carcinoma con infiltración >5mm limitado a cérvix; lesión limitada a cérvix con extensión medida en su diámetro mayor[b] |
| | | **IB1** | Extensión superficial ≤2 cm en su mayor dimensión |
| | | **IB2** | Extensión superficial >2cm y ≤4 cm en su mayor dimensión |
| | | **IB3** | Extensión superficial >4 cm en su mayor dimensión |
| **II** | | | Carcinoma invade más allá del útero, sin extensión al tercio inferior de vagina o a la pared pélvica |
| | **IIA** | | Afectación limitada a los dos tercios superiores de vagina sin afectación parametrial |
| | | **IIA1** | Carcinoma ≤4 cm en su mayor dimensión |
| | | **IIA2** | Carcinoma >4 cm en su mayor dimensión |
| | **IIB** | | Afectación parametrial sin afectación de pared pélvica |
| **III** | | | Carcinoma con invasión del tercio inferior de vagina y/o extensión a pared pélvica y/o causa hidronefrosis o mala función renal y/o afecta a ganglios linfáticos pélvicos y/o ganglios linfáticos paraaórticos |
| | **IIIA** | | Afectación del tercio inferior de vagina, sin extensión a pared pélvica |
| | **IIIB** | | Extensión a pared pélvica y/o hidronefrosis o mala función renal (que no sea debida a otra casusa) |
| | **IIIC** | | Afectación de ganglios linfáticos pélvicos y/o paraaórticos (incluyendo micrometástasis)[c,] independientemente del tamaño del tumor y extensión (con anotaciones r y p)[d] |
| | | **IIIC1** | Metástasis solo en ganglios pélvicos |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | | **IIIC2** | Metástasis en ganglios paraaórticos |
| **IV** | | | Carcinoma con extensión más allá de pared pélvica o con afectación de mucosa de vejiga y recto (confirmada histológicamente). Un edema bulloso no permite clasificar un caso como estadio IV |
| | **IVA** | | Afectación de órganos pélvicos |
| | **IVB** | | Afectación de órganos a distancia |

a) Puede usarse pruebas de imagen y del estudio anatomopatológico a la hora de establecer el tamaño y la extensión del tumor; b) La presencia de invasión linfovascular no modifica el estadio. La extensión lateral de la lesión ya no se tiene en consideración; c) La presencia de células tumorales aisladas no modifica el estadio pero se debe de ser reportada; d) Añadiendo la anotación r (imagen) o p (patología) para indicar los hallazgos usados para su estadificación como IIIC. El tipo de modalidad de imagen o la técnica anatomopatológica utilizada debe de ser documentada. Si existe duda, se debe de asignarse el estadio más bajo.

El aspecto macroscópico del tumor influye de forma determinante en el muestreo tumoral. En los casos en los que no se identifica tumor macroscópicamente, debe incluirse todo el cuello uterino. Por el contrario, en los casos con un tumor visible de gran tamaño, no es necesario incluir todo el tumor, sino un muestreo representativo del mismo, incluyendo los márgenes y la infiltración máxima de la pared cervical.

La medida de la profundidad de la infiltración es frecuentemente dificultosa en el estudio macroscópico, especialmente en los tumores con invasión superficial, los carcinomas con crecimiento exofítico o ulcerados. En estos casos se recomienda medir el grosor y no la profundidad de la infiltración, documentando en el informe la forma de la que se ha realizado la medición.

**Localización del tumor**

Debe documentarse la localización macroscópica de los tumores cervicales en todas las muestras. Además de incluir la proximidad del tumor a los márgenes de resección quirúrgicos, la relación con estructuras anatómicas locales como el manguito vaginal o el tejido parametrial (si está presente), así como la afectación del istmo y del cuerpo uterino.

**Identificación de los bloques**

Deberá registrarse el tejido incluido en cada bloque de parafina y esta información debe de estar documentada en el informe patológico final. Ello facilita la recuperación de los bloques para posteriores estudios inmunohistoquímicos, moleculares o ensayos clínicos, así como una posible revisión interna o externa.

## ESTUDIO MICROSCÓPICO DEL TUMOR

### Clasificación histológica de los tumores cervicales

Todos los carcinomas cervicales deben tipificarse de acuerdo con la edición más reciente de la Clasificación de Tumores Genitales Femeninos de la OMS (actualmente la 5ª edición de 2020, aunque se halla en redacción una nueva edición) (Tabla 2). [5] Esta clasificación, del mismo modo que en otras localizaciones anatómicas, divide los tumores epiteliales en función de su asociación o no con el virus del papiloma humano (VPH). Este cambio en la clasificación es debido a que los tumores VPH-independientes presentan peor supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global que los VPH-asociados.[6] A pesar de las diferencias en pronóstico, no existen en la actualidad diferencias en el tratamiento entre los carcinomas asociados e independientes de VPH.

**Tabla 2.** Clasificación histológica de tumores epiteliales de cuello uterino de la OMS (5ª edición, 2020)

| **TUMORES ESCAMOSOS** |
|---|
| 8077/0 Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado: CIN1 |
| 8077/2 Lesión escamosa intraepitelial de alto grado: CIN2 |
| 8077/2 Lesión escamosa intraepitelial de alto grado: CIN3 |
| 8085/3 Carcinoma escamoso VPH-asociados |
| 8086/3 Carcinoma escamoso VPH-independiente |
| 8070/3 Carcinoma escamoso no específico (NOS) |
| **TUMORES GLANDULARES** |
| 8483/2 Adenocarcinoma in situ VPH-asociado |
| 8484/2 Adenocarcinoma in situ VPH-independiente |
| 8140/3 Adenocarcinoma no específico (NOS) |
| 8483/3 Adenocarcinoma VPH-asociado |
| 8482/3 Adenocarcinoma VPH-independiente, tipo gástrico |
| 8310/3 Adenocarcinoma VPH-independiente, tipo célula clara |
| 9110/3 Adenocarcinoma VPH-independiente, tipo mesonéfrico |
| 8484/3 Adenocarcinoma VPH-independiente, NOS |
| 8380/3 Otros adenocarciomas: Carcinoma endometrioide |
| **OTROS TUMORES EPITELIALES** |
| 8980/3 Carcinosarcoma NOS |
| 8560/3 Carcinoma adenoescamoso |
| 8430/3 Carcinoma mucoepidermoide |
| 8098/3 Carcinoma adenoide basal |
| 8020/3Carcinoma inclasificable |

El tipo más frecuente de tumor cervical es el **carcinoma escamoso** (CE). Es imposible distinguir morfológicamente los tumores VPH-independientes de los VPH-asociados, por lo que resulta indispensable realizar una tinción inmunohiostoquímica para p16 y/o una prueba de detección de VPH. La realización de dichas técnicas para diagnóstico de rutina no es posible en todos los centros, por esta

razón se ha incluido el término «carcinoma escamoso no especificado (NOS)» cuando no puede determinarse su asociación o no a VPH. Cabe destacar que la inmensa mayoría (90-95 %) de los CE están asociados a la infección por VPH.

Los **adenocarcinomas** (AC) constituyen el segundo tipo en orden de frecuencia. Sus características morfológicas permiten determinar su asociación o no a VPH con relativa fiabilidad, razón por la cual la actual clasificación de la WHO 20 no considera la tinción inmunohistoquímica para p16 y/o la determinación de VPH como esencial, siendo un criterio solo recomendable. Aproximadamente el 75 % de los **AC** están **asociados a VPH**. La mayoría de ellos se diagnostican como AC **tipo usual**. La variante villoglandular está incluida dentro de este tipo. Aunque existe una cierta evidencia de que cuando un AC villoglandular es puro se caracteriza por una mínima invasión estromal y se asocia a un mejor pronóstico, se recomienda ser cauteloso en diagnosticar un AC villoglandular en una biopsia, pues es frecuente que forme parte de un AC de tipo usual convencional. Otras variantes de AC asociados a VPH son los ACs **mucinosos**, dentro de los cuales se encuentran las variantes intestinal, de células en anillo de sello y el carcinoma estratificado mucoprodutor. Este último puede plantear el diagnóstico diferencial con el CE (cuando la producción de mucina es poco aparente) y con el carcinoma adenoescamoso.

Los **AC VPH-independientes** incluyen el mucinoso de **tipo gástrico**, el de células claras, el mesonéfrico y el endometrioide. Cabe destacar, que la mayoría de los AC con aspecto endometrioide representan AC VPH-asociados de tiupo usual con escasa mucina citoplasmática. La mayoría de los carcinomas endometrioides verdaderos localizados en cuello uterino corresponden a la extensión directa de un carcinoma de endometrio y solo en raras ocasiones, corresponden a verdaderos AC endometrioides cervicales surgidos de una endometriosis cervical. Cabe destacar, que los casos en los que existe pérdida de expresión de proteínas de los genes reparadores de ADN se consideran primarios endometriales (especialmente aquellos con pérdida de expresión de MLH1/PMS2 e hipermetilación en MLH1) pues suelen afectar al segmento inferior del cuerpo uterino.[7] Los carcinomas serosos cervicales han sido eliminados en la última clasificación de la OMS (OMS20), pues se han considerado como extensiones de carcinomas serosos primarios endometriales, metástasis de otras localizaciones o un AC asociado a VPH de tipo usual con crecimiento papilar.

La mayoría de los **carcinomas adenoescamosos** están asociados al VPH. Para realizar un diagnóstico de carcinoma adenoescamoso, tanto el componente maligno glandular como escamoso debe de ser identificado morfológicamente. La presencia de focos de mucina intracitoplasmática mediante tinciones de mucina en un CE no basta para realizar el diagnóstico de carcinoma adenoescamoso. El carcinoma adenoescamoso también debe diferenciarse de los tumores CE y AC sincrónicos.

El **carcinosarcoma** también está incluido en la categoría de neoplasias epiteliales en la clasificación de la OMS 20, ya que se considera un carcinoma que ha experimentado una diferenciación sarcomatosa.

Las **neoplasias neuroendocrinas** son poco comunes en cérvix. En este grupo se incluyen los tumores y los carcinomas neuroendocrinos. Los primeros están definidos como neoplasias epiteliales de grado bajo o intermedio con características morfológicas e inmunohistoquímicas de diferenciación neuroendocrina. Los segundos incluyen los carcinomas neuroendocrinos de células pequeñas y los de células grandes. La gran mayoría de las neoplasias neuroendocrinas cervicales están asociadas a VPH, generalmente con VPH 18. Las neoplasias neuroendocrinas cervicales pueden encontrarse de forma pura o asociadas a otro tipo de tumor, más comúnmente ACs, pero también CEs o carcinomas adenoescamosos. En estos casos se debe de indicar el porcentaje del componente neuroendocrino. Los carcinomas neuroendocrinos o los tumores mixtos con componente de carcinoma neuroendocrino parecen tener un comportamiento más agresivo.

Por último, en muchos tumores cervicales infiltrantes se identifica lesión intraepitelial asociada. Esta lesión debe ser incluida en el informe, que debe reportar el tipo de lesión (HSIL o AIS), así como la relación de la lesión intraepitelial con los márgenes de resección. Las lesiones precursoras de los tumores VPH-independientes son muy raras.[8], [9]

**Grado de los tumores cervicales**

La OMS recomienda no graduar los CE puesto que no existe correlación entre este parámetro y el pronóstico. Además, muchos de los CE VPH-independientes son queratinizantes y bien diferenciados, pero presentan un peor pronóstico, por lo que la gradación de los CE puede resultar engañosa.

Se han propuesto varios esquemas para graduar los AC VPH-asociados. La Sociedad Internacional de Patólogos Ginecológicos (ISGyP) recomienda graduarlos de forma similar al de la FIGO para el endometrio [10]:

- Grado 1: ≤10 % de crecimiento sólido
- Grado 2: 11-50 % de crecimiento sólido
- Grado 3: >50 % de crecimiento sólido

Al igual que en el endometrio, en los tumores con atipia nuclear marcada en más del 50 % de las células tumorales, debe aumentarse un grado. El patrón microacinar confluyente se considera como crecimiento de tumor sólido.

Se recomienda no graduar los AC HPV-asociados con un componente de carcinoma mucinoso estratificado invasivo, de células en anillo de sello o micropapilares, ya que se consideran todos como de alto grado. Tampoco se recomienda la graduación de los AC VPH-independientes ya que tienen un comportamiento intrínsecamente agresivo a pesar de su apariencia frecuentemente bien diferenciada.

**Tamaño del tumor**

Debe reportarse la medida mayor de la extensión horizontal y la profundidad máxima de la invasión estromal, preferentemente en milímetros. A pesar de que la clasificación FIGO de 2018 eliminó la extensión horizontal como criterio para clasificar los estadios iniciales, se sigue recomendando reportar esta medida, puesto que ofrece una imagen más completa de la extensión y del volumen tumoral. El estadio IB en el sistema de estadificación FIGO utiliza los valores de corte del tamaño tumoral de 20 mm y 40 mm para distinguir IB1 (≤20 mm), IB2 (>20 mm y ≤40 mm) y IB3 (>40 mm) (Tabla 1).[3], [4] Cabe destacar que algunos tumores, especialmente los más grandes, se miden con mayor precisión de forma macroscópica o en estudios de imagen.

En los casos en los que no hay un tumor visible, pero este se detecta en el estudio histológico el patólogo debe intentar dar la medida más representativa basándose en el tamaño del cuello uterino, el número de secciones afectadas y los cuadrantes afectados:

- Si afecta a todo el grosor del estroma y todos los cuadrantes: el diámetro del cuello uterino puede utilizarse como una aproximación razonable del tamaño del tumor
- Si la afectación es circunferencial pero el tumor no invade todo el espesor de la pared, deberá indicarse la mayor extensión horizontal medida en una preparación, junto con el número de bloques afectados por el carcinoma invasor

En los tumores más pequeños, uno de los diámetros horizontales debe de ser tomado en la preparación donde la extensión del carcinoma es mayor. La segunda dimensión horizontal debe de calcularse considerando el grosor del bloque (normalmente 2,5-3 mm) y el número de bloques en el que el carcinoma esté presente. Aunque estes cálculos puedan ser algo imprecisos, en algunos casos es la única forma de determinar la extensión horizontal máxima.

En el caso de que se observe una única lengua de invasión estromal en continuidad con el epitelio de origen, se mide la anchura dicha lengua invasora. Cuando existen múltiples focos de invasión estromal de pequeño tamaño y próximos entre sí, que surgen a partir de una única cripta o del epitelio superficial displásico, la extensión horizontal máxima debe abarcar todos los focos de invasión, desde el borde más proximal al más distal. En caso de que exista una pequeña área de tejido (menor de 2 mm) entre los focos sin invasión, esta debe de ser incluida en la medición horizontal.

En ocasiones no es posible medir las medidas totales del tumor. Esto ocurre en las resecciones parciales, en muestras fragmentadas, o cuando el tumor contacta con el margen de resección. En dichas ocasiones las dimensiones deben reportarse usando la expresión «al menos» seguida por la medida del tumor en la muestra.[2]

Cuando existen resecciones anteriores, deben de tenerse en cuenta a la hora de realizar la medición. Aunque puede sobrestimar la extensión horizontal máxima, se recomienda sumar la medida horizontal máxima de las diferentes muestras para calcular la extensión horizontal final. Mientras que la profundidad de invasión máxima debe de tomarse una única muestra (aquella con la invasión mayor).

Muchos carcinomas de cérvix se diagnostican en estadio avanzado y se tratan mediante quimio y radioterapia tras su diagnóstico por biopsia. En estos casos las medidas del tumor se tomarán del examen clínico y radiológico.

Además de las medidas del tumor, algunos estudios han puesto de manifiesto que el volumen de la neoplasia (basado en las medidas de las tres dimensiones) tiene relevancia pronóstica.[11], [12] Sin embargo, muy pocos centros tienen en cuenta el volumen en el tratamiento de las pacientes.

**Profundidad de la infiltración**

La profundidad máxima de invasión debe medirse desde la base del epitelio (superficie o cripta) donde se origina el carcinoma hasta el punto más profundo de invasión. Si la invasión contacta con el margen profundo de la muestra, se debe especificar en el informe la posibilidad de subestimar la profundidad de la invasión. Si no hay un origen epitelial evidente, la profundidad se mide desde el foco más profundo de invasión hasta la base del epitelio superficial más cercano, independientemente de que sea displásico o normal. Se desaconseja el uso del término «carcinoma microinvasivo» con el objetivo de evitar confusiones, pues este término tiene connotaciones distintas en función del área geográfica.

Existen algunas situaciones en las que no es posible medir la infiltración del tumor, en tales casos se recomienda medir el grosor, especificando en el informe como se ha realizado la medida:

- Neoplasias glandulares en las que no se puede evaluar con precisión dónde acaba el componente *in situ* y dónde empieza el invasivo
- Tumores ulcerados sin origen evidente en el epitelio suprayacente
- Tumores con crecimiento predominante exofítico. Estos en ocasiones pueden presentar escasa invasión del estroma subyacente, pero no deben considerarse como lesiones *in situ*. La profundidad de la invasión del componente no exofítico, si existe, debe indicarse también en el informe

**Medidas de los carcinomas multifocales**

En ocasiones los carcinomas del cuello uterino, especialmente los CE, presentan múltiples focos de invasión. Se consideran como multifocales:

- Carcinomas con focos invasivos que se encuentran separados por bloques de tejido no tumoral
- Carcinomas con focos discontínuos localizados en diferente labio cervical
- Carcinomas con focos distantes en la misma sección. En estos casos se recomienda realizar medidas por separado de cada uno de los focos cuando la distancia entre ambos focos es de más de 2 mm

Se recomienda discutir estos casos en los comités multidisciplinares de tumores con el objetivo de evitar el sobretratamiento de las pacientes.[13], [14] En los casos en los que hay más de un tumor primario, estos deben de reportarse por separado en el informe anatomopatológico.

**Patrones de infiltración**

Silva desarrolló una clasificación de los adenocarcinomas cervicales asociados a VPH en piezas completas de exéresis, con el objetivo de correlacionar los patrones de invasión con el pronóstico de las pacientes, independientemente del estadio. Esta clasificación incluye los siguientes patrones:

- **Patrón A:** glándulas bien formadas que se disponen en grupos con una arquitectura lobulillar relativamente bien preservada, sin invasión estromal destructiva, ni células individuales ni grupos sueltos de células tumorales. Ausencia de crecimiento sólido o de atipia de alto grado, pero son aceptables las proliferaciones intraglandulares complejas (cribiformes o papilares). Ausencia de invasión linfovascular
- **Patrón B:** Invasión destructiva focal que se origina dentro de un patrón tipo A. Se pueden observar células aisladas o grupos de células tumorales en un estroma desmoplásico o inflamatorio, estos focos pueden ser únicos, múltiples o lineales en la base del tumor, pero no deben superar los 5 mm de forma contigua. Pueden presentar invasión linfovascular
- **Patrón C:** Invasión destructiva difusa que suele provocar una respuesta desmoplásica/inflamatoria. Las glándulas pueden ser angulosas o tener un aspecto canalicular/laberíntico, y son frecuentes las glándulas incompletas o fragmentadas, a veces asociadas con lagos de mucina. También se puede observar crecimiento sólido o confluente. Puede presentar invasión linfovascular

Esta clasificación es reproducible entre patólogos y se correlaciona con el riesgo de metástasis en ganglios linfáticos y con el pronóstico.[15], [16], [17], [18] En el estudio original, el riesgo de metástasis en los ganglios linfáticos para los para los patrones A, B y C fue del 0 %, 4,4 % y 23,8 %, respectivamente.[17]

**Invasión linfovascular**

La invasión linfovascular no afecta la estadificación FIGO o TNM, pero debe estar claramente reportada en el informe anatomopatológico. Es un predictor independiente de resultados adversos influyendo en el riesgo de recurrencia y el intervalo libre de enfermedad.[19], [20], [21] Aunque la cuantificación de la invasión linfovascular no es obligatoria, resulta recomendable para disponer de ese dato en estudios futuros.[22]

En ocasiones puede resultar dificultoso diferenciar la invasión linfovascular de un nido de carcinoma infiltrante con retracción del estroma. Las características que pueden ayudar a reconocer la invasión linfovascular incluyen:

- Cercanía a otras estructuras vasculares
- Presencia de revestimiento endotelial del espacio
- Adherencia del grupo de células tumorales a un lado del espacio
- Contorno del grupo de células coincidente con el contorno del vaso
- Presencia de fibrina adherida

Aunque no resultan necesarias para el diagnóstico rutinario las tinciones inmunohistoquímicas para D2-40, CD31 y CD34 pueden ser útiles para confirmar la presencia de invasión linfovascular.

En caso de que no pueda evaluarse la presencia de invasión linfovascular por el estado del tejido, debe de reportarse como indeterminado en el informe.

**Extensión de la invasión**

La invasión de estructuras extracervicales debe de ser reportada. Cabe destacar que el tejido conectivo alrededor del istmo debe considerarse como parte de los parametrios.

**Márgenes de resección**

Se debe registrar el estado de todos los márgenes de resección (exocervical, endocervical, radial/estromal profundo y manguito vaginal). En el momento del estudio macroscópico de la muestra, puede ser útil marcar con tinta de diferentes colores los distintos márgenes de resección para facilitar el reconocimiento preciso de los mismos.

Aunque no hay datos disponibles que indiquen la distancia óptima entre el carcinoma y los margenes de resección, varios estudios demuestran que el riesgo de recurrencia es mayor en cuando los márgenes son ajustados.[23], [24]

En las muestras de histerectomía o traquelectomía, el margen radial debe de documentarse, teniendo en cuenta que el margen radial lateral consiste en tejido parametrial y el margen radial anterior y posterior consiste en tejido estromal cervical.

En los casos en los que existe lesión intraepitelial también resulta necesario documentar en el informe el estado de los márgenes de resección.

## GANGLIOS LINFÁTICOS

El estado de los ganglios linfáticos es uno de los factores pronósticos más importantes en las pacientes con cáncer de cuello uterino.[25] El informe debe incluir la localización y la cantidad de ganglios linfáticos identificados, el número de ganglios afectados por el tumor, el tamaño de las metástasis y el estado de la cápsula ganglionar. La clasificación de TNM tiene en cuenta el tamaño de las metástasis a la hora de determinar la N. Tanto en la clasificación de FIGO como en la de TNM las metástasis se dividen en macrometástasis cuando el depósito tumoral es >2 mm (pN1), micrometástasis cuando mide >0,2-2 mm (pM1 mi) y células tumorales aisladas cuando el depósito tumoral es de <0,2 mm y <200 células (pN0 i+). [26], [27]

En la actualidad muchos centros realizan la resección del ganglio centinela. En caso de que este se reciba como muestra intraoperatoria, las recomendaciones incluyen realizar una sección en congelado y una impronta citológica. Actualmente, las guías no recomiendan realizar el estudio mediante OSNA, por la frecuente presencia de inclusiones epiteliales en los ganglios pélvicos. En caso de que el estudio intraoperatorio haya resultado negativo, se aconseja realizar ultraestadificación de los ganglios realizando como mínimo cinco niveles, separados por espacios de 200 µm entre ellos y realizando una H&E y una citoqueratina de amplio espectro en cada uno de los niveles.[22]

**Bibliografía**

1. F. Landoni et al., 'Randomised study of radical surgery versus radiotherapy for stage Ib-IIa cervical cancer.', Lancet, vol. 350, no. 9077, pp. 535–40, Aug. 1997, doi: 10.1016/S0140-6736(97)02250-2.
2. M. R. Raspollini, S. F. Lax, and W. G. McCluggage, 'The central role of the pathologist in the management of patients with cervical cancer: ESGO/ESTRO/ESP guidelines.', Virchows Arch, vol. 473, no. 1, pp. 45–54, Jul. 2018, doi: 10.1007/s00428-018-2372-7.
3. N. Bhatla, D. Aoki, D. N. Sharma, and R. Sankaranarayanan, 'Cancer of the cervix uteri: 2021 update', International Journal of Gynecology & Obstetrics, vol. 155, no. S1, pp. 28–44, Oct. 2021, doi: 10.1002/ijgo.13865.

4. J. B. Trimbos et al., 'Prognostic difference of surgical treatment of exophytic versus barrel-shaped bulky cervical cancer', Gynecol Oncol, vol. 95, no. 1, pp. 77–81, Oct. 2004, doi: 10.1016/j.ygyno.2004.06.025.

5. 'WHO Classification of Tumours Editorial Board (2020)', Female Genital Tumours, WHO Classification of Tumours, 5th Edition, Volume 4. IARC Press, Lyon.

6. I. Nicolás et al., 'HPV-negative tumors of the uterine cervix', Modern Pathology, vol. 32, no. 8, 2019, doi: 10.1038/s41379-019-0249-1.

7. B. E. Howitt et al., 'Intestinal-type Endocervical Adenocarcinoma In Situ', American Journal of Surgical Pathology, vol. 37, no. 5, pp. 625–633, May 2013, doi: 10.1097/PAS.0b013e318285be00.

8. S. Regauer, O. Reich, and K. Kashofer, 'HPV-negative Squamous Cell Carcinomas of the Cervix With Special Focus on Intraepithelial Precursor Lesions', American Journal of Surgical Pathology, vol. 46, no. 2, pp. 147–158, Feb. 2022, doi: 10.1097/PAS.0000000000001778.

9. S. Regauer and O. Reich, 'The Histologic and Molecular Spectrum of Highly Differentiated HPV-independent Cervical Intraepithelial Neoplasia', American Journal of Surgical Pathology, vol. 47, no. 8, pp. 942–949, Aug. 2023, doi: 10.1097/PAS.0000000000002067.

10. A. Baalbergen, P. C. Ewing-Graham, W. C. J. Hop, P. Struijk, and T. J. M. Helmerhorst, 'Prognostic factors in adenocarcinoma of the uterine cervix.', Gynecol Oncol, vol. 92, no. 1, pp. 262–7, Jan. 2004, doi: 10.1016/j.ygyno.2003.09.001.

11. M. Trattner et al., 'Prognostic Factors in Surgically Treated Stage Ib–IIb Cervical Carcinomas with Special Emphasis on the Importance of Tumor Volume', Gynecol Oncol, vol. 82, no. 1, pp. 11–16, Jul. 2001, doi: 10.1006/gyno.2001.6252.

12. J. Haesen et al., 'Radical hysterectomy without adjuvant radiotherapy in patients with cervix carcinoma FIGO 2009 IB1, with or without positive Sedlis criteria', Gynecol Oncol, vol. 162, no. 3, pp. 539–545, Sep. 2021, doi: 10.1016/j.ygyno.2021.06.026.

13. E. Day et al., 'Multifocal FIGO Stage IA1 Squamous Carcinoma of the Cervix: Criteria for Identification, Staging, and its Good Clinical Outcome', International Journal of Gynecological Pathology, vol. 35, no. 5, pp. 467–474, Sep. 2016, doi: 10.1097/PGP.0000000000000269.

14. P. McIlwaine, H. Nagar, and W. G. McCluggage, 'Multifocal FIGO Stage 1A1 Cervical Squamous Carcinomas have an Extremely Good Prognosis Equivalent to Unifocal Lesions', International Journal of Gynecological Pathology, vol. 33, no. 3, pp. 213–217, May 2014, doi: 10.1097/PGP.0b013e31829040ce.

15. A. A. Roma et al., 'Invasive endocervical adenocarcinoma: a new pattern-based classification system with important clinical significance.', Am J Surg Pathol, vol. 39, no. 5, pp. 667–72, May 2015, doi: 10.1097/PAS.0000000000000402.

16. A. A. Roma et al., 'New pattern-based personalized risk stratification system for endocervical adenocarcinoma with important clinical implications and surgical outcome.', Gynecol Oncol, vol. 141, no. 1, pp. 36–42, Apr. 2016, doi: 10.1016/j.ygyno.2016.02.028.

17. A. Diaz De Vivar et al., 'Invasive endocervical adenocarcinoma: proposal for a new pattern-based classification system with significant clinical implications: a multi-institutional study.', Int J Gynecol Pathol, vol. 32, no. 6, pp. 592–601, Nov. 2013, doi: 10.1097/PGP.0b013e31829952c6.

18. J. K. L. Rutgers et al., 'Pattern classification of endocervical adenocarcinoma: reproducibility and review of criteria.', Mod Pathol, vol. 29, no. 9, pp. 1083–94, Sep. 2016, doi: 10.1038/modpathol.2016.94.

19. R. J. Zaino et al., 'Histopathologic predictors of the behavior of surgically treated stage IB squamous cell carcinoma of the cervix. A Gynecologic Oncology Group study.', Cancer, vol. 69, no. 7, pp. 1750–8, Apr. 1992, doi: 10.1002/1097-0142(19920401)69:7<1750::aid-cncr2820690717>3.0.co;2-s.

20. A. Obermair et al., 'The influence of vascular space involvement on the prognosis of patients with stage IB cervical carcinoma: correlation of results from hematoxylin and eosin staining with results from immunostaining for factor VIII-related antigen.', Cancer, vol. 82, no. 4, pp. 689–96, Feb. 1998.

21. P. Morice et al., 'Prognostic value of lymphovascular space invasion determined with hematoxylin-eosin staining in early stage cervical carcinoma: results of a multivariate analysis.', Ann Oncol, vol. 14, no. 10, pp. 1511–7, Oct. 2003, doi: 10.1093/annonc/mdg412.

22. D. Cibula et al., 'ESGO/ESTRO/ESP Guidelines for the management of patients with cervical cancer - Update 2023.', Int J Gynecol Cancer, vol. 33, no. 5, pp. 649–666, May 2023, doi: 10.1136/ijgc-2023-004429.

23. G. A. McCann et al., 'The impact of close surgical margins after radical hysterectomy for early-stage cervical cancer.', Gynecol Oncol, vol. 128, no. 1, pp. 44–48, Jan. 2013, doi: 10.1016/j.ygyno.2012.10.028.

24. A. N. Viswanathan, H. Lee, E. Hanson, R. S. Berkowitz, and C. P. Crum, 'Influence of margin status and radiation on recurrence after radical hysterectomy in Stage IB cervical cancer.', Int J Radiat Oncol Biol Phys, vol. 65, no. 5, pp. 1501–7, Aug. 2006, doi: 10.1016/j.ijrobp.2006.03.010.

25. T. Uno et al., 'Postoperative radiation therapy for stage IB-IIB carcinoma of the cervix with poor prognostic factors.', Anticancer Res, vol. 20, no. 3B, pp. 2235–9, 2000.

26. J. Brierley, M. Gospodarowicz, and C. Wittekind, '(eds)', 2021, Wiley.

27. A. Olawaiye et al., '(eds)', 2020, Springer, New York.

# Recomendaciones en el diagnóstico del carcinoma de vulva

**Natalia Rakislova[1,2], Jaume Ordi[1,2], Adela Saco[1,3]**

1. *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínic de Barcelona*
2. *Instituto de Salud de Barcelona (ISGLOBAL)*
3. *Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer, Barcelona (IDIBAPS)*

A continuación, se detallan los datos que, según las recomendaciones de las guías internacionales, son precisos para un correcto diagnóstico y deben ser incluidos en el informe diagnóstico de los carcinomas de vulva.

### Información clínica

Es imprescindible disponer de información clínica relevante de la paciente, especialmente a lo referente a:

- Antecedentes de tumores vulvares previos (incluyendo su localización), lesiones precursoras o dermatitis inflamatorias. Antecedentes de otras neoplasias. Esta información es relevante ante cualquier neoplasia con diferenciación glandular, puesto que debe excluirse siempre una metástasis antes de emitir un diagnóstico de adenocarcinoma primario de la vulva.
- Es importante conocer si la paciente ha recibido tratamiento neoadyuvante previo (quimioterapia, radioterapia, quimiorradiación), puesto que esto puede tener un marcado efecto sobre las características patológicas de la neoplasia (macroscópicas y morfológicas).

### Pieza quirúrgica

El tratamiento quirúrgico más habitual en los carcinomas de vulva es la escisión local amplia con márgenes, eliminando el tejido vulvar hasta la fascia profunda. En ocasiones, para obtener márgenes libres puede ser necesario realizar una vulvectomía radical (parcial o total), que puede incluir la extirpación del clítoris con el prepucio, los labios mayores, los labios menores, una porción de la vagina, la uretra y/o el ano. El tratamiento quirúrgico generalmente se realiza cuando existe una biopsia previa que confirme el carcinoma invasivo.

Tanto el tipo de pieza quirúrgica como la localización de los ganglios linfáticos deben de encontrarse especificados tanto en la solicitud como en el informe diagnóstico.

## DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA DE LA MUESTRA

### Dimensiones de la muestra

Aunque no sea necesario para la estadificación, el manejo clínico o el pronóstico de las pacientes, se recomienda que se registren las dimensiones de la pieza quirúrgica en el informe diagnóstico.

Tanto las dimensiones de la muestra, como el resto de las medidas (tamaño del tumor, profundidad de la infiltración, etc) deben realizarse de forma precisa y usando siempre la misma unidad, preferiblemente mm.

### Localización del tumor

Es importante documentar la localización anatómica de la lesión (vulva derecha, vulva izquierda, línea media, labio mayor, labio menor, clítoris). Los tumores ubicados cerca de la línea media o en ella pueden presentar compromiso bilateral o contralateral de los ganglios linfáticos debido a que los vasos linfáticos anastomosan en la línea media, particularmente en el área del clítoris y el labio menor anterior. Esta afectación de la línea media/clítoris se asocia con un peor pronóstico. Es importante identificar la posible afectación de otras estructuras como vagina, uretra, área perianal o ano, aunque es difícil su correctra identificación en resesecciones parciales, especialmente tras la fijación, y se recomienda solicitar la ayuda del cirujano para orientar correctamente e identificar estas estructuras cuando haya sospecha de infiltración.

Las glándulas de Bartolino están ubicadas justo por debajo de la piel, y situadas en la parte posterior de los labios mayores, una a cada lado de la abertura vaginal. Cuando un carcinoma está localizado en esta región debe considerarse la posibilidad de este origen.

### Tamaño del tumor

El diámetro horizontal máximo del tumor, paralelo a la superficie de la piel debe ser medido macroscópicamente en los tumores más grandes. Sin embargo, en los tumores muy pequeños, puede ser mejor o solo posible realizar la medición microscópicamente. Una segunda dimensión horizontal tomada perpendicular a la primera y también paralela a la superficie de la piel suele incluirse en el informe de patología, pero no es necesaria para la estadificación, el manejo o el pronóstico. Al documentar las dimensiones finales del tumor, es necesario tener en cuenta las mediciones en una muestra anterior, por ejemplo, una biopsia excisional.

### Márgenes de resección

Se recomienda que los márgenes quirúrgicos se marquen con tinta. Se deben medir las distancias del tumor al margen epitelial/mucoso periférico más cercano y al márgen profundo, documentando en qué bloque se encuentran estos márgenes.

### Identificación de los bloques

Es esencial documentar en el informe patológico a qué zona de la pieza quirúrgica corresponde cada bloque de parafina. Esta infomración simplifica la identificación de los bloques para estudios inmunohistoquímicos o moleculares o para la selección de material en caso de inclusión de la paciente en ensayos clínicos). Además, es muy relevante si en algún momento se requiere una revisión diagnóstica, ya sea interna o externa.

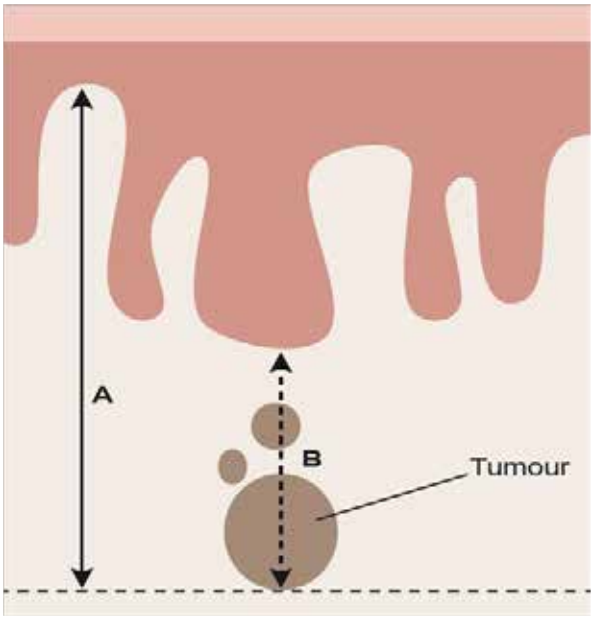
## ESTUDIO MICROSCÓPICO DEL TUMOR

### Profundidad de la invasión tumoral

Es imprescindible documentar la profundidad máxima de invasión del tumor en todos los tumores infiltrantes, puesto que una invasión mayor a 1 mm indica un estadio superior a IA [1], lo que se traduce en la necesidad de realizar un estudio ganglionar.

Tradicionalmente, esta medición se realizaba desde la papila dérmica más superficial adyacente al tumor hasta el punto más profundo de invasión (medición convencional) (ver Figura 1). En 2015 se propuso un método alternativo: medir desde la membrana basal de la cresta epidérmica displásica más profunda adyacente al tumor hasta el nido invasor más profundo [2, 3]. Con este método algunos tumores en estadio IB según la medición clásica, se clasifican como estadio IA.

**Figura 1.** Medición de la profundidad de invasión en carcinomas escamosos vulvares.




El método tradicional (A) consiste en medir desde la papila dérmica más superficial adyacente al tumor hasta el punto más profundo de invasión, mientras que el método alternativo (B) consiste en medir desde la membrana basal de la cresta epidérmica displásica más profunda adyacente al tumor (libre de tumor) hasta el punto más profundo de invasión.

Aunque las evidencias existentes son en la actualidad algo escasas (un solo estudio que mostraba que las pacientes reclasificadas a estadio IA desarrollaban menos recurrencias y presentaban una mayor supervivencia en comparación con los pacientes que permanecieron en el estadio IB [2]), la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO) de 2021 [4] decidió adoptar el método alternativo para medir la profundidad de la invasión. Este enfoque armoniza el método de medición con el utilizado en los carcinomas de cérvix uterino y se espera que reduzca la morbilidad de la cirugía al disminuir la necesidad de realizar linfadenectomías. Cabe destacar que la Sociedad Europea de Oncología Ginecológica en su la guía más reciente (actualización de 2023) sobre el manejo de pacientes con cáncer vulvar, recomienda documentar la profundidad de invasión utilizando ambos métodos, pero basar el tratamiento en el método tradicional [5].

**Clasificación histológica de los tumores vulvares**

Todos los tumores deben clasificarse según la edición más reciente de la Clasificación de Tumores de los Órganos Genitales Femeninos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), 5ª edición, publicada en 2020 [6]. En la actualidad está en marcha una nueva edición (6ª), pero no se espera que introduzca grandes cambios.

**El carcinoma escamoso vulvar (CEV)** es, con mucho, el carcinoma más común en la vulva. Tradicionalmente se sub-clasificaba en los subtipos queratinizante, no queratinizante, basaloide y verrugoso, pero esta sub-clasificación ha sido reemplazada por una clasificación en la que el estado del VPH es el principal determinante. Así, al igual que ocurre con los carcinomas escamosos de otras áreas anatómicas en las que con el virus del papiloma humano (VPH) está implicado como cérvix, vagina, pene o región orofaríngea, los CEV deben clasificarse según su relación o no con el virus, como asociados o independientes de VPH. Por ello, resulta **indispensable realizar una tinción inmunohiostoquímica para p16 y/o una detección molecular del virus**, debido a que existe un notable solapamiento entre subtipos histológicos y asociación con VPH. Este cambio responde a la relevancia pronóstica del estatus de VPH, ya que los CEV no relacionados con el VPH muestran peor la supervivencia global y libre de enfermedad [7, 8]. Cuando el estatus del VPH no puede determinarse con confianza o no hay recursos disponibles para realizar pruebas complementarias, un diagnóstico morfológico de carcinoma escamoso VPH no especificado es aceptable.

Los CEV asociados al VPH surgen de infecciones persistentes por uno o más VPH de alto riesgo, siendo con mucho el más común el tipo 16. Se desarrollan habitualmente sobre lesiones precursoras intraepiteliales asociadas a la infección VPH denominadas lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado (HSIL, de su acrónimo en inglés *high-grade squamous intraepitelial lesión*). Es frecuente que las pacientes con carcinomas asociados a VPH tengan antecedentes de tabaquismo, inmunosupresión y que presenten lesiones en otras áreas del tracto genital femenino inferior (vagina, cuello uterino) o de la región anal y perianal. La mayoría de los carcinomas asociados al VPH muestran morfología basaloide o condilomatosa, pero un porcentaje no desdeñable, son queratinizantes [9].

Los carcinomas independientes de VPH a menudo surgen en el contexto de lesiones inflamatorias crónicas de la vulva, en particular liquen simple crónico y, especialmente, liquen escleroso. Se desarrollan habitualmente sobre lesiones precursoras intraepiteliales de tipo diferenciado o verrucoso (neoplasia vulvar intraepitelial de tipo difereciado o verrucoso-acantótico, dVIN o vaVIN de sus acrónimos en inglés *differentiated vulvar intraepitelial beoplasia* y *verruciform-acanthotic vulvar intraepitelial beoplasia,* respectivamente). La mayoría de los carcinomas independientes del VPH son morfológicamente queratinizantes, pero, al igual que con los CEV asociados a VPH, existe un cierto solapamiento histológico [9].

La mayoría, pero no todos, los CEV independientes del VPH están asociados con mutaciones en *TP53*. Una proporción de ellos no presentan alteración de *TP53*, y existe evidencia creciente de que estos pueden tener un pronóstico intermedio entre los CEV asociados al VPH y los VPH-independientes *TP53*-mutados [8, 10]. La información sobre el estado de *TP53*, inferida a través de la detección inmunohistoquímica de p53, la cual se correlaciona de forma bastante fidedigna con el estado del gen [11], debería ser incluida en los informes de anatomía patológica.

**Los carcinomas de células basales** de vulva son histológicamente idénticos a sus equivalentes en otras localizaciones cutáneas y deben distinguirse de los CEV con morfología basaloide.

**Los adenocarcinomas** primitivos de la vulva son poco frecuentes. Pueden ser de tipo mamario (varios tipos como en la mama), de origen en glándulas sudoríparas (varios tipos), de origen en glándula de Bartholino, de tipo intestinal o desarrollarse sobre enfermedad de Paget vulvar (enfermedad de Paget invasiva) [12, 13]. Antes de diagnosticar un adenocarcinoma como primario vulvar, debe considerarse siempre en el diagnóstico diferencial la metástasis de un adenocarcinoma de otra localización. El conocimiento de los antecedentes clínicos y las características inmunohistoquímicas, son de gran ayuda en esta distinción.

Un subgrupo muy pequeño de carcinomas vulvares (escamosos y glandulares) pueden surgir de la glándula de Bartholino [14]. Para ser considerados primarios de la glándula de Bartholino, el tumor debe estar situado en la región anatómica de la glándula, no debe identificarse otro primario alternativo y, preferiblemente, debe identificarse tejido normal de la glándula de Bartholino adyacente al tumor.

**Las neoplasias neuroendocrinas** son poco comunes en la vulva y entre ellos se incluye el carcinoma de células de Merkel. Algunos carcinomas neuroendocrinos vulvares están asociados a la infección por VPH [15], mientras que algunos carcinomas de células de Merkel están asociados a poliomavirus [16].

### Grado histológico

La asignación de grado no está recomendada en los CEV puesto que no tiene impacto en la evolución clínica [17]. De hecho, se produce la paradoja de que los carcinomas independientes del VPH, que tienden a ser queratinizantes y a menudo bien diferenciados, tienen un peor pronóstico que los CEV asociados al VPH, que suelen ser no queratinizantes, basaloides y mal diferenciados.

Los adenocarcinomas deben ser graduados, aunque, debido a su escasa frecuencia, las evidencias sobre la correlación entre grado y pronóstico son escasas o inexistentes.

### Invasión linfovascular

La invasión linfovascular es un factor pronóstico adverso que se asocia con un mayor riesgo de recurrencia local, metástasis en los ganglios linfáticos y una peor supervivencia [18]. Es importante tener cautela al diferenciar entre una invasión linfovascular verdadera y posibles imitadores, como el «arrastre» de células tumorales a los espacios linfovasculares o nidos invasores convencionales con artefacto de retracción. Las tinciones inmunohistoquímicas para D2-40, CD31 y CD34 pueden ser de utilidad para confirmar la presencia de invasión linfovascular.

### Invasión perineural

Muy pocos estudios han valorado la invasión perineural, con resultados discordantes en cuanto a su impacto pronóstico [18].

### Márgenes de resección

Los pacientes con CEV con márgenes quirúrgicos positivos o cercanos al tumor tienen un alto riesgo de recurrencia local. Se ha sugerido un margen de al menos 8 mm desde el tumor como la distancia mínima imprescindible para reducir significativamente el riesgo de recurrencia local [19]. Sin embargo, estudios recientes muestran que no hay diferencia en la recurrencia entre un margen quirúrgico libre de tumor de <8 mm y ≥8 mm [19, 20]. También es probable que el riesgo de recurrencia respecto a la distancia del tumor al margen más cercano difiera entre los CEV asociados al VPH y los independientes del VPH.

Está claro que existen múltiples problemas a la hora de medir la distancia a los márgenes quirúrgicos y no hay pautas claras sobre cómo deben realizarse estas mediciones. No es recomendable proporcionar distancias separadas macroscópicas y microscópicas a los márgenes en el informe de patología, sino una única medición.

Se recomienda incluir los siguientes elementos en el informe:

- La afectación o no de uno o más márgenes quirúrgicos superficial (piel, mucosa) o profundo por el carcinoma invasor, **especificando cual o cuales están afectos**.

- Si no hay afectación directa de márgenes periféricos, debe reportarse **la distancia mínima entre el carcinoma invasivo y el margen de resección.** Debe especificarse la distancia entre el tumor y el margen superficial más próximo y la distancia entre el tumor y el margen profundo más próximo. Estas distancias deben medirse trazando una línea recta.
- La afectación o no de un margen superficial por lesión precursora intraepitelial (HSIL o VIN), especificando, en caso de que exista afectación, cual es el margen afectado. La tinción inmunohistoquímica para p53 puede ser útil para evaluar la afectación del margen por VIN independiente del VPH, debido a la dificultad que tiene el diagnóstico basado en criterios morfológicos puros [21].

**Presencia de lesiones premalignas**

Es importante registrar en el informe anatomopatológico de los CEV la presencia o no de lesiones precursoras intraepiteliales, así como de otras lesiones coexistentes. Ello proporciona información sobre la etiopatogénesis del tumor [10], específicamente si está asociado al VPH o es independiente del VPH.

Son diversas las lesiones asociadas con el CEV. Algunas se consideran lesiones precursoras, mientras que otras, como el liquen escleroso, no se consideran precursoras, sino una condición inflamatoria crónica que aumenta el riesgo de desarrollar un CEV independiente del VPH o de que este recurra cuando está presente en los márgenes quirúrgicos.

Se debe informar de la presencia de las siguientes lesiones vulvares en la piel adyacente al carcinoma infiltrante: **lesión escamosa intraepitelial asociada al VPH (LSIL o HSIL), VIN independiente del VPH y liquen escleroso.**

Las lesiones precursoras escamosas vulvares se clasifican en asociadas al VPH (lesión intraepitelial escamosa asociada al VPH (LSIL o HSIL) e independientes del VPH (VIN independiente del VPH). Las lesiones asociadas al VPH incluyen predominantemente HSIL, mientras que los LSIL vulvares son poco comunes. Es recomendable realizar una tinción inmunohistoquímica para p16 para clasificar correctamente estas lesiones. Las lesiones precursoras asociadas al VPH se asocian con el consumo de tabaco, inmunosupresión y, a menudo, son multifocales. Esta multifocalidad no está solo limitada a otras lesiones en la vulva, sino que con frecuencia se presentan también lesiones asociadas al VPH en otras áreas del tracto anogenital (vagina, cérvix y región anal/perianal).

Las lesiones precursoras independientes del VPH, denominadas colectivamente «VIN independiente del VPH», incluyen un espectro de lesiones con morfología variada. La más frecuente de las lesiones precursoras independientes del VPH es el VIN diferenciado (dVIN), caracterizado por atipia limitada a la basal, con correcta maduración de los queratinocitos en capas altas y muestra, casi constantemente, un patrón anormal de expresión de p53, indicativo de mutación del gen. La segunda forma es el VIN acantótico verruciforme (vaVIN) [22], concepto que engloba lesiones anteriormente descritas como acantosis vulvar con diferenciación alterada (VAAD), o lesión intraepitelial vulvar exofítica diferenciada (DEVIL), liquen simplex crónico verruciforme, o maduración aberrante vulvar. Estas lesiones se caracteizan por una arquitectura acantótica y verrucosa, muy queratinizante y un patrón de expresión de p53 normal. Recientemente, se ha propuesto que las lesiones de VIN independiente del VPH sean subclasificadas según el estatus de p53 (dVIN asociado a alteraciones de p53 y vaVIN con p53 normal) [22].

Cabe destacar, por último, que algunas lesiones premalignas independientes del VPH son morfológicamente indistinguibles de HSIL [23, 24], mientras que algunas lesiones precursores intraepiteliales asociadas al VPH pueden simular VIN diferenciado [25], por lo que el estudio inmunohistoquímico para p16 y p53 es ecomendable también en las lesiones intraepiteliales. Evidencias recientes sugiere, además, que los CEV independientes de VPH que surgen sobre precursores intraepiteliales que simulan HSIL tienen más probabilidades de recurrir que los tumores que surgen en dVIN convencional [26].

## GANGLIOS LINFÁTICOS

La afectación de los ganglios linfáticos regionales es uno de los parámetros pronósticos adversos más importantes en el cáncer de vulva [17]. Por lo tanto, y con la única excepción de los carcinomas basocelulares, su evaluación está indicada en todos los carcinomas en estadio IA (pT1a) o mayor de la FIGO; es decir, en todos los carcinomas que excedan los 20 mm de tamaño, aquellos con una invasión en profundidad mayor de 1 mm y aquellos que afecten estructuras adyacentes (tercio inferior de la uretra, tercio inferior de la vagina o ano), independientemente de su tamaño y de su infiltración [27, 28].

En caso de que exista afectación macroscópica ganglionar por el tumor, un muestreo representativo del ganglio es aceptable. Cuando no exista afectación macroscópica, los ganglios deben ser seccionados en intervalos de 2 mm perpendiculares al eje mayor del ganglio y deben ser estudiados en su totalidad.

Recientemente, el estudio del o de los ganglios centinela se ha establecido como protocolo estándar en el CEV, substituyendo a la linfadenectomía inguinal, dada la elevada morbilidad de esta última [5]. La evaluación de los ganglios linfáticos centinelas debe seguir un protocolo de ultraestadificación, que debe incluir el estudio inmunohistoquímico para citoqueratina. El informe debe indicar si existe metástasis y si el diagnóstico de metástasis se ha realizado en el examen histológico rutinario o tras la ultraestadificación. La afectación de los ganglios linfáticos debe registrarse como presencia de células tumorales aisladas (ITC, acrónimo del inglés isolated tumor cells), cuando el foco metastásico sea menor de 0,2 mm, micrometástasis, cuando el foco metastásico sea de 0.2-2 mm, o macrometástasis, cuando el foco metastásico sea mayor de 2 mm. No es necesario realizar ultraestadificación en linfadenectomías. Tanto en ganglios centinela como no centinela, la ubicación anatómica y el número de ganglios linfáticos identificados, el número de ganglios metastásicos, el tamaño del depósito tumoral más grande y la presencia o ausencia de extensión extracapsular deben documentarse.

### Bibliografía


1. Olawaiye AB, Cotler J, Cuello MA, et al. FIGO staging for carcinoma of the vulva: 2021 revision. Int J Gynaecol Obstet 2021; 155: 43–47.
2. van den Einden LC, Massuger LF, Jonkman JK, et al. An alternative way to measure the depth of invasion of vulvar squamous cell carcinoma in relation to prognosis. Modern Pathology 2015; 28: 295–302.
3. Skala SL, Ebott JA, Zhao L, et al. Predictive Value of an Alternative Strategy for Measuring Depth and Size of Stage 1 Vulvar Squamous Cell Carcinoma. J Low Genit Tract Dis 2020; 24: 265–271.
4. Olawaiye AB, Cuello MA, Rogers LJ. Cancer of the vulva: 2021 update. International journal of gynaecology and obstetrics 2021; 155 Suppl: 7–18.
5. Oonk MHM, Planchamp F, Baldwin P, et al. European Society of Gynaecological Oncology Guidelines for the Management of Patients with Vulvar Cancer - Update 2023. Int J Gynecol Cancer 2023; 33: 1023–1043.
6. Herrington CS, Board WC of TE. Female Genital Tumours, https://www.research.ed.ac.uk/en/publications/who-classification-of-tumours-female-genital-tumours (2020, accessed 4 January 2025).
7. McAlpine JN, Leung SCY, Cheng A, et al. Human papillomavirus (HPV)-independent vulvar squamous cell carcinoma has a worse prognosis than HPV-associated disease: a retrospective cohort study. Histopathology 2017; 71: 238–246.
8. Kortekaas KE, Bastiaannet E, van Doorn HC, et al. Vulvar cancer subclassification by HPV and p53 status results in three clinically distinct subtypes. Gynecol Oncol 2020; 159: 649–656.

9. Rakislova N, Clavero O, Alemany L, et al. «Histological characteristics of HPV-associated and -independent squamous cell carcinomas of the vulva: A study of 1,594 cases». Int J Cancer 2017; 141: 2517–2527.

10. Nooij LS, Ter Haar NT, Ruano D, et al. Genomic Characterization of Vulvar (Pre)cancers Identifies Distinct Molecular Subtypes with Prognostic Significance. Clinical cancer research 2017; 23: 6781–6789.

11. Tessier-Cloutier B, Kortekaas KE, Thompson E, et al. Major p53 immunohistochemical patterns in in situ and invasive squamous cell carcinomas of the vulva and correlation with *TP53* mutation status. Modern Pathology 2020; 33: 1595–1605.

12. Willén R, Békássy Z, Carlén B, et al. Cloacogenic adenocarcinoma of the vulva. Gynecol Oncol 1999; 74: 298–301.

13. Tessier-Cloutier B, Asleh-Aburaya K, Shah V, et al. Molecular subtyping of mammary-like adenocarcinoma of the vulva shows molecular similarity to breast carcinomas. Histopathology 2017; 71: 446–452.

14. Nazeran T, Cheng AS, Karnezis AN, et al. Bartholin Gland Carcinoma: Clinicopathologic Features, Including p16 Expression and Clinical Outcome. Int J Gynecol Pathol 2019; 38: 189–195.

15. Chen PP, Ramalingam P, Alvarado-Cabrero I, et al. High-grade Neuroendocrine Carcinomas of the Vulva: A Clinicopathologic Study of 16 Cases. Am J Surg Pathol 2021; 45: 304–316.

16. Coggshall K, Tello TL, North JP, et al. Merkel cell carcinoma: An update and review: Pathogenesis, diagnosis, and staging. J Am Acad Dermatol 2018; 78: 433–442.

17. Julia CJ, Hoang LN. A review of prognostic factors in squamous cell carcinoma of the vulva: Evidence from the last decade. Semin Diagn Pathol 2021; 38: 37–49.

18. Chen J, Ln H. A review of prognostic factors in squamous cell carcinoma of the vulva: Evidence from the last decade. Semin Diagn Pathol. Epub ahead of print 22 September 2020. DOI: 10.1053/j.semdp.2020.09.009.

19. Nooij LS, van der Slot MA, Dekkers OM, et al. Tumour-free margins in vulvar squamous cell carcinoma: Does distance really matter? Eur J Cancer 2016; 65: 139–149.

20. Woelber L, Griebel LF, Eulenburg C, et al. Role of tumour-free margin distance for loco-regional control in vulvar cancer-a subset analysis of the Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie CaRE-1 multicenter study. Eur J Cancer 2016; 69: 180–188.

21. Thompson EF, Wong RWC, Trevisan G, et al. p53-Abnormal «Fields of Dysplasia» in Human Papillomavirus–Independent Vulvar Squamous Cell Carcinoma Impacts Margins and Recurrence Risk. Modern Pathology 2023; 36: 100010.

22. Parra-Herran C, Nucci MR, Singh N, et al. HPV-independent, p53-wild-type vulvar intraepithelial neoplasia: a review of nomenclature and the journey to characterize verruciform and acanthotic precursor lesions of the vulva. Modern Pathology 2022; 35: 1317–1326.

23. Ordi J, Alejo M, Fusté V, et al. HPV-negative vulvar intraepithelial neoplasia (VIN) with basaloid histologic pattern: an unrecognized variant of simplex (differentiated) VIN. Am J Surg Pathol 2009; 33: 1659–65.

24. Rakislova N, Alemany L, Clavero O, et al. HPV-independent precursors mimicking high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL) of the vulva. American Journal of Surgical Pathology 2020; 44: 1506–1514.

25. Rakislova N, Alemany L, Clavero O, et al. Differentiated Vulvar Intraepithelial Neoplasia-like and Lichen Sclerosus-like Lesions in HPV-associated Squamous Cell Carcinomas of the Vulva. American Journal of Surgical Pathology; 42. Epub ahead of print 2018. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001047.

26. Carreras-Dieguez N, Saco A, del Pino M, et al. Vulvar squamous cell carcinoma arising on human papillomavirus-independent precursors mimicking high-grade squamous intra-epithelial lesion: a distinct and highly recurrent subtype of vulvar cancer. Histopathology 2023; 82: 731–744.

27. Preti M, Joura E, Vieira-Baptista P, et al. The European Society of Gynaecological Oncology (ESGO), the International Society for the Study of Vulvovaginal Disease (ISSVD), the European College for the Study of Vulval Disease (ECSVD) and the European Federation for Colposcopy (EFC) consensus statem. International Journal of Gynecological Cancer 2022; 32: 830.

28. Koh WJ, Greer BE, Abu-Rustum NR, et al. Vulvar Cancer, Version 1.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. J Natl Compr Canc Netw 2017; 15: 92–120.

# Recomendaciones del Grupo de Trabajo de Linfomas de la SEAP

# Recomendaciones para el estudio histopatológico, inmunohistoquímico, citogenético y molecular e informe diagnóstico de los procesos neoplásicos linfoides. Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL

**Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP), Grupo Español de Linfomas y Trasplante Autólogo de Medula Osea (GELTAMO), Grupo Oncológico para el Tratamiento y Estudio de Linfomas (GOTEL)**

*Grupo de trabajo:*

***Santiago Montes Moreno.*** *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IDIVAL, Santander.*

***Manuela Mollejo Villanueva.*** *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario de Toledo, Toledo.*

***Máximo Fraga.*** *Servicio de Anatomía Patológica, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago, Santiago de Compostela.*

***Juan Fernando García.*** *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital MD Anderson, Madrid.*

***Mar Garcia Garcia.*** *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa.*

***Olga Balagué.*** *Unidad de Hematopatología, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clinic, Barcelona.*

***Socorro María Rodríguez Pinilla.*** *Servicio de Anatomía Patológica, Fundación Jiménez Díaz, Madrid.*

***Empar Mayordomo Aranda.*** *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario La Fe, Valencia.*

***Monica Garcia Cosio-Piqueras.*** *Servicio de Anatomia Patológica, Hospital Universitario Ramon y Cajal, Madrid.*

***Carlos Aliste.*** *Servicio de Anatomía Patológica, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago, Santiago de Compostela.*

***Natalia Papaleo.*** *Servicio de Anatomia Patológica, Hospital Parc Tauli, Barcelona.*

***Sonia Gonzalez de Villambrosia.*** *Unidad de Citogenética Hematológica, Servicio de Hematología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IDIVAL, Santander.*

***Mariano Provencio Pulla.*** *Servicio de Oncología Médica, Hospital Puerta de Hierro, Madrid.*

***Ramón García Sanz.*** *Servicio de Hematología, Hospital General Universitario Gregorio Marañon, Madrid, España.*

Quinta edición.

Descargo de responsabilidad y potenciales conflictos de interés: Aunque el contenido de las guías se considera cierto, preciso y actualizado en el momento de la publicación, ni los autores, ni las sociedades científicas a las que representan aceptan ninguna responsabilidad legal en relación con el contenido ni el potencial uso de las mismas. Los autores no tienen conflictos de interés relacionados directa o indirectamente con el contenido de las guías.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Introducción

**Santiago Montes Moreno**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IDIVAL, Santander*

## OBJETIVO DE LAS GUÍAS DE CONSENSO

El avance en la investigación en el área de patología oncohematológica aporta continuamente nuevos marcadores con potencial valor diagnóstico, pronóstico y predictivo de respuesta a terapias dirigidas. Es tarea del hematopatólogo conocer y participar activamente en este avance así como incorporar gradualmente en su práctica diaria aquellos marcadores que se validen en el ámbito clínico. No obstante, la evidencia disponible en la literatura basada en ensayos clínicos y estudios observacionales (niveles de evidencia I y II) acerca de la aplicabilidad de marcadores diagnósticos en el campo de la hematopatología es escasa y se requiere con frecuencia un consenso de expertos en la materia para generar documentos de recomendaciones sobre aspectos relacionados con diagnóstico en hematopatología.

Así, la principal finalidad de estas guías es servir al patólogo general, hematopatólogo y hematólogo dedicado al diagnóstico el producto de la evidencia disponible filtrado por un comité de expertos que matizan las recomendaciones en función, esencialmente, de la aplicabilidad de la técnica y de su relevancia clínica. Se deriva de esto que las guías definen el catálogo de técnicas diagnósticas que se deben utilizar en un laboratorio de hematopatología y la forma en que se integran en el proceso diagnóstico. Adicionalmente se incluyen recomendaciones específicas sobre otros aspectos menos técnicos del proceso diagnóstico como la interpretación de patrones histopatológicos y consideraciones sobre los criterios utilizados en el diagnóstico de cada entidad, según la clasificación vigente, de la OMS y su aplicación cotidiana.

Aunque es indudable que la terapia de cada paciente y su pronóstico depende en buena medida del diagnóstico histopatológico y de algunos de los marcadores complementarios utilizados en este proceso, la decisión acerca de la mejor terapia para cada paciente se debe tomar en comités multidisciplinares. Existen toda una serie de marcadores biológicos clínicos (por ejemplo, edad del paciente y estadificación), esenciales en muchos casos en la identificación de la mejor terapia para cada caso, que se deben valorar en conjunto con los datos histopatológicos y moleculares en la toma de decisión clínica. A este respecto existen guías clínicas de referencia. Así, el objetivo al desarrollar estas guías de consenso a nivel nacional es normalizar la aplicación de los criterios diagnósticos y los métodos complementarios empleados en el mismo en patología oncohematológica linfoide.

Específicamente se pretende que las guías aquí desarrolladas provean:

- Recomendaciones acerca de los métodos óptimos de obtención de muestras para diagnóstico y el uso y procesamiento adecuado de las muestras e incorporación del excedente a biobancos.

- Orientación del catálogo de técnicas de uso clínico en el ámbito del diagnóstico hematopatológico (estudio morfológico, inmunohistoquímico y de citometría de flujo, FISH y moleculares). Recomendaciones acerca de condiciones técnicas y de interpretación óptimas.
- Orientación acerca del abordaje diagnóstico óptimo en el ámbito de la hematopatología con énfasis en los criterios diagnósticos vigentes, diagnóstico diferencial y potenciales errores diagnósticos.
- Indicación de marcadores diagnósticos de utilidad pronóstica y con potencial carácter predictivo de respuesta a terapia.

## MÉTODO DE GENERACIÓN DE LAS GUÍAS

Un grupo de once hematopatólogos expertos pertenecientes al Club Español de Linfomas (Santiago Montes Moreno, Manuela Mollejo Villanueva, Máximo Fraga, Juan Fernando García, Mar Garcia Garcia, Olga Balagué, Socorro María Rodríguez Pinilla, Empar Mayordomo Aranda, Monica Garcia Cossio-Piqueras, Carlos Aliste, Natalia Papaleo), dos hematólogos especialistas en diagnóstico hematológico (Ramón García Sanz, Sonia Gonzalez de Villambrosia) y un médico oncólogo especialista en oncohematologia (Mariano Provencio Pulla) realiza una revisión exhaustiva de la literatura disponible y genera unos documentos tipo con capítulos dedicados a apartados generales y capítulos específicos para cada entidad nosológica. Al final de cada capítulo se derivan unas recomendaciones específicas. Los niveles de evidencia son los utilizados por la US Agency for Health Care Policy and Research (véase Tablas 1 y 2).

Estos documentos se revisan en conjunto por el grupo redactor. Las recomendaciones producto de estos documentos revisados se sometieron a consenso por el grupo redactor utilizando un sistema de votación sobre un cuestionario. Las opiniones sobre cada ítem se miden utilizando una escala Likert de 4 puntos oscilando desde «muy de acuerdo» a «muy en desacuerdo». El consenso se define como el apoyo de más del 70 % de los expertos a un elemento, habiendo respondido con «muy de acuerdo» o «de acuerdo». El documento final incluye el texto principal de cada capítulo y las recomendaciones finalmente consensuadas específicas de cada capítulo al final del mismo.

El documento guia se revisará y actualizará con una periodicidad bienal.

**Tabla 1.** Niveles de evidencia.

| | |
|---|---|
| **Ia** | Evidencia obtenida de meta-análisis de ensayos clínicos randomizados. |
| **Ib** | Evidencia obtenida de al menos un ensayo clínico randomizado. |
| **IIa** | Evidencia obtenida de al menos un ensayo bien diseñado, no randomizado, incluyendo ensayos en fase II y estudios de tipo caso-control. |
| **IIb** | Evidencia obtenida de al menos un ensayo de otro tipo, bien diseñado, cuasiexperimental, por ejemplo estudios no intervencionistas, incluyendo estudios observacionales. |
| **III** | Evidencia obtenida de estudios descriptivos no experimentales bien diseñados. Evidencia obtenida de metaanálisis o ensayos clínicos randomizados o estudios de fase II publicados sólo como resumen a congreso. |
| **IV** | Evidencia obtenida de informes de comités de expertos u opiniones y/o experiencia clínica de autoridades en el campo. |

**Tabla 2.** Grados de recomendación.

| | |
|---|---|
| **Grado A. Evidencia nivel Ia, Ib** | Recomendación basada en al menos un ensayo clínico randomizado de buena calidad y consistencia, enfocado específicamente en la recomendación. |
| **Grado B. Evidencia nivel IIa, IIb, III** | Recomendación basada en estudios bien planificados pero no ensayos clínicos randomizados acerca del tema de la recomendación. |
| **Grado C. Evidencia nivel IV** | Evidencia basada en informes de comités de expertos y/o experiencia clínica de autoridades en el tema. |

## Bibliografía


1. Montes-Moreno S, López-Ríos F. Patología molecular y dianas terapéuticas. Libro Blanco de la Anatomía Patológica en España. España2013.
2. Parker A BB, Devereux S, Gatter K, Jack A, Matutes E, Rooney N, Ross F, Wilkins B, Wotherspoon A, Ramsay A. Best Practice in Lymphoma Diagnosis and Reporting. 2012.
3. NCCN. NCCN Guidelines, https://www.nccn.org/.
4. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leukemia. 2022;36(7):1720-1748.
5. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. Blood. 2022;140(11):1229-1253

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Obtención de las muestras para diagnóstico hematopatológico

**Santiago Montes Moreno**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IDIVAL, Santander*

## BIOPSIA DE TEJIDO

La biopsia de tejido es necesaria para establecer el diagnóstico de procesos linfoproliferativos. La biopsia no sólo permite confirmar un diagnóstico de linfoma sino establecer el tipo histológico específico según la clasificación vigente, generar información pronóstica y eventualmente orientar la terapia. Asimismo, el material excedente diagnóstico, adecuadamente procesado, se podrá incorporar a los biobancos de tejido para futuros usos en investigación biomédica. Es preciso obtener consentimiento informado del paciente para los diferentes procedimientos requeridos (obtención de la muestra, incorporación de la misma al Biobanco/proyecto de investigación, etc). Es responsabilidad del clínico obtener estos consentimientos informados del paciente.

En todos los casos, la muestra debe acompañarse de una hoja de solicitud de estudio anatomopatológico con un breve resumen de los antecedentes del paciente debiéndose especificar la sospecha diagnóstica, el origen de la muestra y la hora de extracción. Los datos de índole hematológica relevantes en la orientación diagnóstica del caso deben incluirse en todo caso en la hoja de solicitud si no están accesibles en red en el centro en cuestión.

## BIOPSIA DE ADENOPATÍA O TEJIDO EXTRAGANGLIONAR AFECTO. TIPOS DE MUESTRAS

La biopsia de tejido en un paciente con sospecha de proceso linfoproliferativo debe ser suficiente para realizar los siguientes estudios:

- Análisis de la morfología en muestras fijadas en formol e incluidas en parafina (FFIP).
- Estudios de inmunohistoquímica en muestras FFIP.
- Estudios de citometría de flujo (CMF) de material en fresco. Si no es posible hacer llegar la muestra en condiciones al laboratorio de CMF se debe considerar disgregar la muestra e incluir en fijador previo al envío.
- Análisis de FISH a partir de improntas de tejido o tejido FFIP.
- Estudios moleculares (análisis de clonalidad linfoide mediante PCR, PCR cuantitativa y similares, secuenciación) a partir de ADN genómico extraído de la muestra. La mayoría de los análisis moleculares basados en amplificación del ADN se pueden realizar a partir de tejido FFIP aunque la calidad del ADN de partida es significativamente inferior al del extraído de muestras en fresco/congeladas.
- Estudios de citogenética a partir de muestras en fresco.

Recientemente el grupo francés ha comparado el rendimiento diagnóstico de la biopsia con aguja gruesa (BAG) y la biopsia escisional de ganglio linfático en la red de diagnóstico centralizado Lymphpath. Se concluye que la BAG puede facilitar el manejo clínico de los pacientes facilitando un diagnóstico concluyente en el 92 % de los casos. La biopsia escisional provee, en esta serie, de un diagnóstico concluyente en el 98 % de los casos y mayor precisión para la clasificación de las linfadenopatías reactivas. Además provee de material excedente de tejido para estudios complementarios de diversa índole. De forma relevante, se demuestra que un número significativo de casos con biopsias de difícil diagnóstico se benefician de una segunda opinión por un hematopatologo experto.

**Tipos de muestra**

- **Biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto**: Es el **método de elección** y debe de ser el método utilizado siempre en los casos de adenopatías superficiales/palpables. En aquellos pacientes con adenopatías profundas no accesibles a la palpación o que por su localización tienen mayor riesgo quirúrgico, la aproximación dependerá de la situación del paciente, de la sospecha diagnóstica, del tamaño así como de la adherencia a planos profundos*.
  *En el caso de masas en mediastino anterior para realizar un correcto diagnóstico es necesario realizar una mediastinoscopia con **biopsia incisional** (la rentabilidad de las muestras de punción obtenidas mediante EBUS (ecobroncoscopia) para el diagnóstico de procesos hematológicos es en general bajo) **o en su defecto, una biopsia-trucut con aguja gruesa (14-16 G).**
  En el caso de adenopatías retroperitoneales o intraabdominales, ante un paciente con situación clínica que permita afrontar la cirugía se realizará una laparoscopia/laparotomía con toma de biopsia escisional/incisional. En caso de que la situación clínica del paciente no permita una cirugía (por situación general, comorbilidades, coagulopatía etc.) o el diagnóstico de linfoma sea poco probable, se realizará una **BAG (biopsia con aguja gruesa)-tru cut.**

- **Biopsia con aguja gruesa (BAG):** Es la aproximación a utilizar en aquellos casos en los que el diagnóstico de linfoma **NO** sea probable o que en caso de que la sospecha sea linfoma no se pueda realizar una biopsia incisional/escisional por la situación clínica del paciente. Siempre que sea posible, se obtendrán **6-8 cilindros con una aguja de 14-16G**. En estos casos el estudio de la muestra debe incluir siempre, además del estudio morfológico, técnicas auxiliares (citometría de flujo, inmunohistoquímica, análisis de reordenamientos mediante FISH y, en situaciones concretas, análisis de clonalidad linfoide B y T).

- **Punción aspiración con aguja fina (PAAF):** A pesar de la relativa facilidad y el reducido número de complicaciones que presenta la PAAF (dirigida o no mediante técnicas de imagen), debido al escaso rendimiento diagnóstico, esta prueba **NO debe de realizarse para el diagnóstico inicial de un paciente con adenopatías de posible origen neoplásico, especialmente con sospecha de origen linfoide**. **No obstante puede ser suficiente para establecer un diagnóstico de recidiva.** Igualmente **es de utilidad como medio para orientar el manejo del paciente con baja sospecha de proceso neoplásico**.

Una vez realizada la biopsia, la muestra será idealmente remitida en fresco inmediatamente al laboratorio de Anatomía Patológica donde el patólogo se encargará de procesar y derivar con carácter urgente a los laboratorios pertinentes para los estudios especiales que requieran muestra en fresco (citometría de flujo, FISH en improntas, molecular y microbiología si procede) y biobanco de tejidos. Para una buena preservación del tejido, el intervalo transcurrido entre la toma de biopsia y su procesamiento no debe ser superior a 30 minutos. ***Si no es posible asegurar que la muestra se va a***

***procesar en este tiempo se sumergirá intacta en formol tamponado y se enviará de la forma habitual al servicio de Anatomía Patológica.***

Las muestras de biopsia incisional/escisional así como BAG destinadas a estudio histopatológico se deben fijar en formol tamponado que permite la realización posterior de estudios morfológicos, fenotípicos, de hibridación in situ y moleculares. Las muestras escisionales se deben procesar adecuadamente para asegurar una fijación homogénea (secciones de 2-5 mm de grosor perpendiculares al eje mayor del ganglio linfático). Para evitar problemas de reactividad inmunohistoquímica se debe evitar la sobrefijación (por ejemplo más de 24 horas en formol o más de 4 horas en zinc formalina o B5).

La congelación de las muestras con destino biobanco o análisis molecular se debe realizar en condiciones estándar:

- Criomoldes con medio OCT que proteja la muestra.
- Inmersión en isopentano o nitrógeno líquido a -80ºC.
- Almacenaje a -80ºC hasta su uso.

## MÉDULA ÓSEA (MO)

La muestra de aspirado y biopsia de médula ósea, en conjunto con los hallazgos clínicos y en sangre periférica pueden ser suficientes para el diagnóstico de algunos procesos linfoproliferativos, particularmente aquellos con manifestaciones leucémicas (por ejemplo leucemia linfocítica crónica, leucemia de células grandes granulares, tricoleucemia, entre otros). No obstante, en los casos de proceso linfoproliferativo de localización ganglionar o visceral/ósea las muestras obtenidas de médula ósea (aspirado y/o cilindro de médula ósea de cresta ilíaca) no son suficientes para el diagnóstico inicial de proceso linfoproliferativo y es preciso obtener una muestra de la localización primaria de la neoplasia.

## BIOPSIA DE MÉDULA ÓSEA

El papel de la biopsia-cilindro de médula ósea en el diagnóstico y estadiaje de los procesos linfoproliferativos está bien establecido. Actualmente, no obstante, algunas indicaciones de biopsia de médula ósea para el estadiaje de determinados tipos de linfoma están en revisión, dada la disponibilidad de técnicas de imagen metabólicas (TEP/TC).

La biopsia cilindro se debe obtener idealmente de la cresta ilíaca posterior o anterior y tener una longitud de al menos 1,5 cm. Microscópicamente la muestra de biopsia debe contener entre 7 y 10 áreas intertrabeculares. Es preferible tener en cuenta este criterio en lugar de la longitud del cilindro pues la localización subcortical de algunas biopsias o una toma de muestra tangencial a la superficie del hueso puede limitar la representatividad a pesar de tener una longitud de 1,5 cm.

La muestra se puede fijar en medios de formol al 4 % o mezclas de formol y B5 u otras aunque estas últimas requieren de un procesamiento adecuado de los residuos peligrosos. La fijación en formol al 4 % permite el uso de posteriores técnicas de inmunohistoquímica y moleculares. Posteriormente a la fijación en formol la muestra se debe decalcificar (EDTA) e incluir en parafina.

Las secciones del bloque de parafina se deben teñir con HE (secciones seriadas) y reticulina por defecto. La tinción de Giemsa puede ser de utilidad en determinadas circunstancias, así como el PAS y tinciones de hierro (Perls). El panel de inmunohistoquímica se debe solicitar en función de la sospecha basada en el análisis morfológico.

## ASPIRADO DE MEDULA ÓSEA

La muestra de aspirado de MO es útil para análisis morfológico, citometría de flujo, inmunocitoquímica, citogenética convencional, FISH y PCR. La muestra obtenida se puede procesar en fresco en medio anticoagulante o bien fijar en formol tamponado y generar posteriormente un bloque tras FFIP (fijación en formol e inclusión en parafina).

## PIEZA DE ESPLENECTOMÍA

La esplenectomía diagnóstica es una técnica en desuso en la actualidad debido a la mejora en las técnicas de caracterización fenotípica de las poblaciones linfoides en sangre periférica (SP) y MO. No obstante existe un subgrupo de pacientes que son sometidos a esplenectomías diagnósticas - terapéuticas en el contexto de enfermedades hematológicas. El procesamiento de la pieza de esplenectomía es equivalente al de la biopsia escisional de ganglio linfático. Se recomienda aislar de entrada áreas representativas del parénquima esplénico y ganglio linfático hiliar de 2 mm de grosor para asegurar una fijación óptima de la muestra.

## PIEL

La biopsia de piel debe ser escisional, evitando el punch, y debe incluir tejido celular subcutaneo. Ante lesiones multiples o sospecha de micosis fungoide (MF) se recomienda toma de varias biopsias en varias localizaciones. Ante la sospecha de otros procesos neoplasicos que simulen MF o sindrome de Sezary 8eritrodermias no neoplasicas) podria ser interesante biopsias que incluyan parte de tejido normal adyacente, no tumoral.

## RECOMENDACIONES

1. Bajo ningún concepto debe utilizarse la PAAF (Punción-aspiración con aguja fina) para el diagnóstico inicial de un paciente con adenopatías de posible origen neoplásico linfoide (el rendimiento diagnóstico es muy bajo y existe riesgo de desvirtuar una muestra necesaria para una biopsia posterior). No obstante, puede ser suficiente para establecer un diagnóstico de recidiva (Grado C, nivel de evidencia IV).

2. La biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto es el método de elección para el diagnóstico inicial de los casos con sospecha de proceso linfoproliferativo. En los casos en que por la situación clínica del paciente se realice una BAG (Biopsia con aguja gruesa) el estudio de la muestra de BAG debe incluir siempre, además del estudio morfológico, técnicas auxiliares (citometría de flujo, inmunohistoquímica, análisis de reordenamientos mediante FISH y, en situaciones concretas, análisis de clonalidad linfoide B y T) (Grado C, nivel de evidencia IV).

3. En todos los casos, la muestra debe acompañarse de una hoja de solicitud de estudio anatomopatológico con la sospecha diagnóstica, el origen de la muestra, los datos clínicos y de laboratorio relevantes y la hora de extracción (Grado C, nivel de evidencia IV).

4. La muestra de tejido será idealmente remitida en fresco inmediatamente al laboratorio de anatomía patológica donde el patólogo se encargará de procesar y derivar con carácter urgente a los laboratorios pertinentes para los estudios especiales. (Grado C, nivel de evidencia IV).

5. Las muestras de biopsia incisional/escisional así como BAG destinadas a estudio histopatológico se deben fijar en formol tamponado que permite la realización posterior de estudios morfológicos, fenotípicos, de hibridación in situ y moleculares. (Grado C, nivel de evidencia IV).

6. Si se dispone de una cantidad de tejido limitada se debe priorizar el análisis morfológico y fenotípico básico a las técnicas de análisis citogenético (FISH) o molecular o inclusión de muestra en biobanco. (Grado C, nivel de evidencia IV).

7. El estudio citogenético de elección en muestras de tejido o improntas es FISH. (Grado C, nivel de evidencia IV).

8. En la mayoría de los casos de proceso linfoproliferativo (aquellos de localización ganglionar o visceral/ósea) las muestras obtenidas de médula ósea (aspirado o cilindro de médula ósea de cresta ilíaca) no son suficientes para el diagnóstico inicial de proceso linfoproliferativo y es preciso obtener una muestra de la localización primaria de la neoplasia. (Grado C, nivel de evidencia IV).

9. Se debe realizar una biopsia de médula ósea de estadiaje en todos los casos con diagnóstico de proceso linfoproliferativo de localización ganglionar o visceral. (Grado C, nivel de evidencia IV).

10. La biopsia-cilindro de médula ósea debe contener al menos 7 espacios intertrabeculares, con una longitud aproximada de 1,5 cm. (Grado C, nivel de evidencia IV).

**Bibliografía**


1. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia*. 2022;36(7):1720-1748.

2. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. *Blood*. 2022;140(11):1229-1253

3. Parker A BB, Devereux S, Gatter K, Jack A, Matutes E, Rooney N, Ross F, Wilkins B, Wotherspoon A, Ramsay A. Best Practice in Lymphoma Diagnosis and Reporting. 2012.

4. Hehn ST, Grogan TM, Miller TP. Utility of fine-needle aspiration as a diagnostic technique in lymphoma. J Clin Oncol. 2004 Aug;22(15):3046-52.

5. Meda BA, Buss DH, Woodruff RD, Cappellari JO, Rainer RO, Powell BL, et al. Diagnosis and subclassification of primary and recurrent lymphoma. The usefulness and limitations of combined fine-needle aspiration cytomorphology and flow cytometry. Am J Clin Pathol. 2000 May;113(5):688-99.

6. Dong HY, Harris NL, Preffer FI, Pitman MB. Fine-needle aspiration biopsy in the diagnosis and classification of primary and recurrent lymphoma: a retrospective analysis of the utility of cytomorphology and flow cytometry. Mod Pathol. 2001 May;14(5):472-81.

7. Jeffers MD, Milton J, Herriot R, McKean M. Fine needle aspiration cytology in the investigation on non-Hodgkin's lymphoma. J Clin Pathol. 1998 Mar;51(3):189-96.

8. Zeppa P, Marino G, Troncone G, Fulciniti F, De Renzo A, Picardi M, et al. Fine-needle cytology and flow cytometry immunophenotyping and subclassification of non-Hodgkin lymphoma: a critical review of 307 cases with technical suggestions. Cancer. 2004 Feb;102(1):55-65.

9. Hussong JW, Arber DA, Bradley KT, Brown MS, Chang CC, de Baca ME, et al. Protocol for the examination of specimens from patients with non-Hodgkin lymphoma/lymphoid neoplasms. Arch Pathol Lab Med. 2010 Jun;134(6):e40-7.

10. Syrykh C, Chaouat C, Poullot E, et al. Lymph node excisions provide more precise lymphoma diagnoses than core biopsies: a French Lymphopath network survey. *Blood*. 2022;140(24):2573-2583.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Estudio histopatológico de tejidos hematolinfoides

**Máximo Fraga**
*Servicio de Anatomía Patológica, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago, Santiago de Compostela*

## INTRODUCCIÓN

Como en cualquier otro campo de la patología, un examen histopatológico sistemático del tejido, usualmente teñido con hematoxilina y eosina, resulta clave para la elaboración de un diagnóstico diferencial adecuado. En algunos casos permite por sí solo emitir un diagnóstico, aunque suelen ser necesarios estudios adicionales, especialmente en el caso de patología neoplásica. Como siempre, es esencial para la correcta orientación diagnóstica el conocimiento del contexto clínico del paciente.

El estudio histopatológico requiere el conocimiento de los compartimentos normales y su composición celular, a fin de valorar primero la arquitectura, para obtener una impresión general y, posteriormente, analizar las características celulares. Por ello, en este capítulo revisaremos brevemente los compartimentos que deben ser examinados de forma sistemática durante el estudio histopatológico de ganglio linfático, bazo y médula ósea. Si el resultado orienta con mayor o menor probabilidad hacia una neoplasia linfoide, pueden consultarse los capítulos de esta guía dedicados a criterios diagnósticos específicos y diferenciales de las diversas entidades.

## GANGLIO LINFÁTICO

El examen de las preparaciones sin microscopio puede ofrecer ya algunas pistas que nos guíen en el estudio microscópico posterior, tales como si el ganglio se encuentra agrandado, si la apariencia es uniforme o heterogénea, si se observan nódulos de tamaño desproporcionado, si la coloración es monótona o existen áreas diferentes, etc.

Una vez al microscopio, se debe explorar la totalidad de la estructura del ganglio, preferiblemente con un objetivo de bajo aumento tipo 2x. Veremos si la arquitectura se encuentra conservada o si, por el contrario, existe un borramiento difuso o una alteración focal de la misma. Posteriormente, con mayor aumento, atenderemos a aquellas áreas en que encontremos algo llamativo o anormal y revisaremos el resto de compartimentos ganglionares. Debemos ir consignando las alteraciones que encontremos porque nos servirán de ayuda para la elaboración del diagnóstico.

De forma sistematizada, los compartimentos que debemos evaluar son:

**Tejido periganglionar y cápsula del ganglio linfático.**

Se debe examinar el tejido periganglionar, por si existiese infiltración del mismo por alguna proliferación linfoide u otro tipo de proceso. También la cápsula, que debe ser fina y uniforme, debe ser examinada para descartar cualquier proceso infiltrativo, engrosamientos, prolongaciones fibrosas hacia el interior del ganglio, etc.

**Folículos linfoides.**

Podemos observar folículos primarios, en forma de nódulos densos constituidos por linfocitos pequeños del tipo de la zona del manto, y/o folículos secundarios, con centros germinales rodeados por un anillo de células del manto. Los centros germinales pueden aparecer hiperplásicos o, por el contrario, involucionados o regresivos. Hay que prestar atención a la composición celular de los mismos, que ha de ser polimorfa (centrocitos, centroblastos, macrófagos con cuerpos tingibles…), así como a la existencia o no de polarización, etc.; este tipo de características ayudan a distinguir hiperplasias de linfomas foliculares. En diferentes situaciones patológicas, la zona del manto puede estar expandida o atenuada. Con respecto a la zona marginal, en condiciones normales solo está presente en el bazo y en ganglios mesentéricos, por lo que en ganglios periféricos su existencia siempre indica alguna alteración, ya sea de tipo reactivo o neoplásico.

**Área paracortical o interfolicular.**

Se trata de un área heterogénea, con abundantes linfocitos pequeños, linfocitos transformados más grandes, generalmente dispersos, y células dendríticas, entre otros componentes. Puede estar expandida en reacciones de tipo inmunoblástico y en linfomas, especialmente de fenotipo T.

**Senos linfáticos.**

En ocasiones aparecen prominentes, como cuando se encuentran ocupados por células que pueden ser de muy diferente naturaleza: macrófagos, células metastásicas, células neoplásicas de un linfoma anaplásico de células grandes, etc. Otras veces prácticamente no se aprecian: ganglios inactivos, ganglios en los que el crecimiento de un linfoma comprime los senos, etc.

**BAZO**

El tejido esplénico se compone de pulpa blanca, constituida por folículos linfoides y vainas linfoides periarteriolares, y pulpa roja, ricamente vascularizada. El patrón de afectación esplénico por procesos proliferativos o infiltrativos puede ser difuso o focal:

a. Con respecto al patrón difuso, algunos procesos asientan preferentemente sobre la pulpa blanca y otros sobre la pulpa roja. En el primer caso se trata fundamentalmente de hiperplasias, linfomas B de células pequeñas y linfomas T, que producen expansiones nodulares que pueden llegar a confluir. Cuando la afectación predominante es en la pulpa roja, en casos benignos esto puede responder a congestión inespecífica, anemias hemolíticas, hematopoyesis extramedular, enfermedades de almacenamiento lisosómico, etc.; en caso de malignidad, son ejemplos característicos de afectación de pulpa roja la tricoleucemia y el linfoma T hepatoesplénico, entre otros.

b. La afectación focal del bazo puede estar en relación con alteraciones de tipo muy variado, tanto benignas como malignas: pseudotumores inflamatorios, quistes, linfoma de Hodgkin, linfoma B difuso de células grandes, tumores de células foliculares dendríticas, etc.

## MÉDULA ÓSEA

En la biopsia de médula ósea se deben valorar la proporción, el grado de maduración y la topografía de las series hematopoyéticas. También se debe prestar atención al estroma: presencia o no de fibrosis, senos dilatados, ocupación sinusal por células neoplásicas, agregados o nódulos linfoides.

En el caso de las proliferaciones linfoides, el reconocimiento del patrón de infiltración medular ayuda en el diagnóstico diferencial y puede aportar información pronóstica. Habitualmente se describen 5 patrones: intersticial, nodular o focal aleatorio, paratrabecular, intrasinusoidal y difuso. Ninguno de ellos es específico de un tipo de linfoma, pero algunos sí son muy característicos, como la infiltración paratrabecular en el linfoma folicular y la infiltración intrasinusoidal en el linfoma esplénico de la zona marginal.

### Bibliografía

1. Jaffe ES, Arber DA, Campo E, Harris NL, Quintanilla.Martínez L. Hematopathology. Second Edition. Saunders, 2017.

2. O'Malley DP, George TI, Orazzi A, Abbondanzo SL. Benign and Reactive Conditions of Lymph Node and Spleen. AFIP Atlas of Nontumor Pathology, Vol. 7. American Registry of Pathology, 2009.

3. Wilkins BS. Pitfalls in bone marrow pathology: avoiding errors in bone marrow trephine biopsy diagnosis. J Clin Pathol. 2011; 64(5): 380-6.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Estudio inmunohistoquímico. Aplicación del inmunofenotipado de neoplasias linfoides

**Olga Balagué**
*Unidad de Hematopatologia. H Clinic, Barcelona Unidad de Hematopatología, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clinic, Barcelona*

## INTRODUCCIÓN

La clasificación de las neoplasias linfoides se basa en tres pilares: la morfología, las alteraciones genéticas y el fenotipo. El fenotipado puede realizarse actualmente mediante citometría de flujo y técnicas de inmunohistoquímica sobre secciones de tejidos. La disponibilidad de un citómetro de flujo en muchos de los laboratorios de hematología hace esta primera opción especialmente interesante en nuestros días. El diagnóstico de la patología mieloide, por ejemplo, se realiza básicamente por medio de la citometría de flujo puesto que ofrece un resultado más rápido y amplio que el fenotipo del tejido. Tras convertir el tejido de la biopsia en una suspensión celular, se puede proceder a su estudio con los mismos protocolos con los que se analizan los síndromes linfoproliferativos en sangre periférica. En ocasiones, especialmente en biopsias pequeñas, puede optimizarse la rentabilidad del estudio realizando éste sobre el medio de transporte líquido de la biopsia (suero fisiológico, medio de cultivo o PBS) especialmente en linfomas muy agresivos como el linfoma de Burkitt. Esta técnica permite un diagnóstico rápido en pocas horas y es el complemento ideal del fenotipado de líquidos biológicos (derrames o líquido cefalorraquídeo o incluso citologías vítreas). No obstante, en la mayoría de los casos la citometría será una técnica complementaria a la inmunohistoquímica y nunca la debe suplir. El fenotipado sobre secciones de tejido tiene el poder adicional de preservar la inmunoarquitectura del tejido. Por ejemplo, la expresión de BCL2 en un centro germinal tiene el valor diagnóstico de neoplasia del que carece la expresión en la zona del manto o la zona marginal. Además, nos permite reconocer el tipo celular en que se observa la expresión, por ejemplo, la expresión de ciclina D1 en un macrófago tisular es fisiológica mientras que la expresión en una célula linfoide es indicativa de neoplasia. Lo mismo sucede con el compartimento subcelular donde se observa la expresión. La presencia de ALK en diferentes compartimentos celulares permite inferir el tipo de translocación asociada al linfoma anaplásico: nuclear y citoplasmática en la translocación t(2;5) NPM-ALK o la vesicular citoplasmática en Clatrina-ALK.

El fenotipado sobre secciones de tejido fijado en formol e incluido en parafina no es ya un desafío. Las modernas técnicas de recuperación antigénica se han estandarizado entorno a tres grandes grupos: las técnicas de calor con buffer de pH ácido, con pH alcalino y la digestión enzimática. En la actualidad existen plataformas totalmente automatizadas que permiten la realización de protocolos individualizados sobre cada sección de tejido para caracterizar la expresión de antígenos mediante inmunohistoquímica. Además, los sistemas actuales de amplificación de señal basados en polímeros,

así como la presencia de diferentes enzimas y substratos, han permitido la expansión de técnicas de marcaje múltiple inmunohistoquímico así como de combinación de protocolos de inmunohistoquímica e hibridación in situ.

En los siguientes apartados resumiremos las principales indicaciones de las técnicas de inmunohistoquímica en el diagnóstico de neoplasias linfoides.

## ESTUDIO DE INMUNOGLOBULINAS COMO MARCADOR DE CLONALIDAD.

Una de las aplicaciones más útiles de las técnicas de inmunohistoquímica es la demostración de expresión de cadenas ligeras citoplásmaticas como marcador de clonalidad. Todas las células linfoides B neoplásicas muestran, salvo pocas excepciones, expresión en superfície de un receptor. Este receptor es una inmunoglobulina convenientemente modificada para dirigirse a la membrana citoplásmatica. De forma similar a nuestros anticuerpos del suero, la inmunoglobulina como receptor consta de dos cadenas pesadas (una de cualquiera de las siguientes; IgA, IgD, IgG, IgM e IgE) y dos cadenas ligeras (κ o λ) apropiadamente ensambladas. En condiciones fisiológicas el proceso de exclusión alélica selecciona en cada célula una única forma de cadena ligera, κ o λ. En la sangre de forma fisiológica, se encuentran un 60 % de linfocitos B κ y un 40 % λ. La detección en un tejido de una población exclusiva o dominante con expresión de únicamente de una de estas cadenas es altamente sugestiva de clonalidad y por ende de neoplasia. A esta situación la denominamos restricción de cadenas ligeras. La cantidad de expresión de estas cadenas en un linfoma B de bajo grado es muy baja, y la técnica tiene que estar bien optimizada. La mayor parte de protocolos recomiendan una alta dilución de anticuerpos policlonales que reconozcan cada una de las cadenas tras una conveniente recuperación antigénica con tampones de bajo pH. La expresión intensa de cadenas citoplasmáticas se observa en linfomas con diferenciación plasmocelular y transformación secretora, además de en neoplasias de células plasmáticas. Por otro lado, la expresión de cadenas ligeras es un argumento sólido para la identificación de la línea B de una neoplasia cuando otros marcadores son negativos (ver más adelante).

De otra forma, las cadenas pesadas son útiles en inmunohistoquímica de procesos linfoproliferativos B. La mayor parte de los linfomas son positivos de forma variable para IgM e IgD. No obstante, IgD es muy útil en la identificación de los mantos foliculares fisiológicos y por tanto, en el reconocimiento del patrón infilitrativo de la neoplasia. Además, la positividad casi exclusiva de IgD es característica de los linfomas de zona marginal esplénicos. IgM identifica los plasmablastos de la Enfermedad de Castleman multicéntrica y es el subtipo de cadena pesada en el linfoma linfoplasmacítico cuando este se presenta como enfermedad de Waldenstrom. Otros subtipos son característicos de procesos específicos, como IgA, que se expresa en linfomas foliculares primarios duodenales o IgG que se expresa de forma característica en la tricoleucemia. La expresión de IgG es también útil en el diagnóstico de la forma primaria cutánea del linfoma de zona marginal, y la expresión de IgG4 de algunos linfomas de zona marginal de glándulas salivales además del síndrome sistémico esclerosante IgG4.

## DIAGNÓSTICO DE NEOPLASIAS LINFOIDES B AGRESIVAS

El diagnóstico de las neoplasias agresivas se basa fundamentalmente en criterios clinicopatológicos fácilmente reconocibles como el crecimiento destructivo del tejido donde se asienta la lesión, el elevado índice mitótico y/o apoptótico (como el «cielo estrellado» del linfoma de Burkitt), la presencia de células grandes y por supuesto la presencia de algunos parámetros clínicos de agresividad (LDH altas, masas grandes tumorales, presencia de anemia severa o la hipercaptación del PET). En esta situación el inmunofenotipo ayuda a definir la línea linfoide B versus T y otras (Hodgkin, mieloide o histicitico/dendrítico, ver más adelante). La utilización de un único marcador pan B y pan T en estos casos puede ser muy engañosa. Algunos linfomas agresivos B pueden ser negativos para CD20, como el linfoma plasmablástico, y otros, como el linfoma difuso de células grandes de tipo activado puede perder la expresión de CD79a. En algunos casos, un linfoma T periférico puede expresar CD20 y/o CD79a, pero raramente otros marcadores disponibles en la actualidad para identificar células B como

PAX5, CD19 o CD22. Además, la expresión de cadenas ligeras puede usarse como un potente argumento a favor de la identificación de la estirpe B de la neoplasia. Por otro lado, en este grupo heterogéneo de neoplasias linfoides se han descrito numerosos marcadores pronósticos que permiten estratificar en grupos de riesgo a los pacientes. La diferenciación centrogerminal en un linfoma difuso de células grandes, se asocia a un mejor pronóstico, probablemente, porque en ese momento del desarrollo, su contrapartida no neoplásica es extraordinariamente sensible al microambiente que en todo momento controla su capacidad de proliferación. Por ello en los últimos años han aparecido un sinfín de marcadores que reflejan este momento de diferenciación, algunos de los cuales son altamente recomendables en la práctica clínica: CD10, BCL6, IRF4, HGAL, MEF2B y LMO2 son algunos de los mejor caracterizados. La presencia de un fenotipo clásico de centro germinal normal, positividad para marcadores de centro germinal y negatividad para BCL2 es muy útil en el diagnóstico diferencial entre la hiperplasia folicular, siempre negativa para BCL2 y el linfoma folicular, usualmente positivo. No obstante, algunos tumores agresivos como el linfoma de Burkitt imitan el fenotipo del centro germinal normal.

## DIAGNÓSTICO DE PROCESOS LINFOPROLIFERATIVOS DE CÉLULAS PEQUEÑAS

En el caso de los linfomas de células pequeñas B, algunas entidades tienen un inmunofenotipo muy característico que permite establecer el diagnóstico casi con total seguridad basado en el inmunofenotipado. Así, el linfoma folicular tiene un fenotipo característico con positividad para CD10, BCL6 y BCL2. El linfoma de células del manto expresa CD5,ciclina D1 y SOX-11 mientras que el linfoma linfocítico expresa CD5, CD23 y LEF1, pero no ciclina D1. El estudio de cadenas ligeras por inmunohistoquímica en los linfomas de bajo grado es de menos utilidad que en los de alto grado, por el menor nivel de expresión que hace que estas sean raramente detectables en secciones de tejido parafinado a excepción del linfoma de zona marginal o del linfoma linfoplasmacítico en las que de forma constante se observa una marcada diferenciación secretora en el tumor.

## DIAGNÓSTICO DE PROCESOS LINFOPROLIFERATIVOS DE LINFOCITOS T, T/NK Y NK

A diferencia de las neoplasias de linfocitos B, este grupo heterogéneo de tumores no dispone de marcadores inmunofenotípicos de clonalidad, apenas existen perfiles fenotípicos específicos de una única entidad tumoral y el diagnóstico de la entidad requiere un panel amplio de marcadores que no están al alcance de todas las unidades de diagnóstico.

La expresión de la kinasa ALK1 por inmunohistoquímica en un linfoma T es característica del linfoma T anaplásico (expresándose también en los linfomas B de célula grande ALK positivos y casos de carcinomas de pulmón y tumores miofibroblásticos inflamatorios). No obstante, a veces el fenotipo T no resulta evidente y requiere el estudio de reordenamientos del receptor antigénico de las células T para establecer la línea de la neoplasia.

CD2, el antiguo receptor implicado en las rosetas con eritrocitos de carnero, es un marcador de línea T poco usado en inmunohistoquímica que tiene unos resultados muy buenos en tejido fijado en formol y parafinado. El panel debe completarse con CD3, CD5, y CD7, éste último perdido en una buena proporción de linfomas T. La pérdida de CD5 y CD3, son sugestivas de derivación T/NK, NK. No obstante, el CD3 citoplasmático puede estar expresado en células NK.

### Ki67

Ki -67 es un antígeno nuclear presente en todas las células proliferantes que se encuentran en la fase activa del ciclo celular (G1,S, G2 y mitosis) y ausente en G0. Es un marcador ampliamente utilizado en diversas subdisciplinas de la patología, en combinación con otros marcadores puede ayudar a decantar el diagnóstico a favor de benignidad o malignidad en algunos casos.

En el campo de la hematopatología tiene dos grandes utilidades. Por un lado permite ver cuál es el compartimento linfoide que está proliferando y cuál es la distribución de la proliferación; heterogénea u homogénea. Por ejemplo en el diagnóstico diferencial entre un linfoma de la zona marginal y un linfoma folicular. En el caso del primero esperamos una distribución parcheada (colonización) mientras que en el linfoma folicular de bajo grado esperamos una distribución más homogénea. En algunos casos, como en el linfoma de células del manto, es un marcador pronóstico que es capaz de reflejar una compleja firma molecular de proliferación. Por otro lado, dado que realza los nucléolos y tiñe toda la masa nuclear, puede ser de ayuda en casos en que la morfología es pobre, para establecer el diagnóstico de alto o bajo grado, en función del tamaño del núcleo como en el caso del linfoma folicular.

## FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN

En los últimos años se ha ampliado el número de marcadores que podemos utilizar en la rutina diagnóstica. Estos además han pasado de corresponder únicamente a proteínas de membrana y se han desarrollado anticuerpos para algunos factores de transcripción, con tinción nuclear que nos permiten caracterizar las poblaciones linfoides en su proceso madurativo.

### Pax-5

Es un factor de transcripción implicado en la diferenciación de la célula B, cuya expresión se extingue al entrar la célula en la fase terminal de diferenciación. Se utiliza para demostrar la línea B de las células y se expresa de forma débil en las células de Reed-Sternberg y Hodgkin. Fuera del sistema hematolinfoide se expresa en tumores neuroendocrinos principalmente pulmonares y muestra reacción cruzada con Pax-8.

### IRF4/MUM-1

Multiple myeloma oncogene-1 (MUM-1) pertenece a la familia de IRF-4. Es un factor de transcripción involucrado en el desarrollo de células B, T y en la diferenciación plasmocelular. Se usa para identificar un subtipo de linfomas difusos de célula grande de fenotipo activado, en combinación con CD10 y BCL-6. Es positivo también en linfocitos T activados, en un subgrupo de células B del centro germinal y en las células de Reed-Sternberg del linfoma de Hodgkin.

### BCL-6

Es un factor de transcripción implicado en la diferenciación de la célula B. La supresión de su expresión es fundamental para la diferenciación plasmocelular. Se utiliza para identificar células centrogerminales así como sus contrapartidas neoplásicas. Se expresa por tanto en linfoma folicular, un subgrupo de linfomas difusos de célula grande y en linfoma de Burkitt.

## DIANAS TERAPÉUTICAS

Desde hace más de 15 años, algunos de los antígenos que utilizamos en el diagnóstico de las neoplasias linfoides se han convertido en dianas terapéuticas de uso en el tratamiento de estos pacientes en combinación con quimioterapia. Muchos de estas dianas pueden estudiarse fácilmente por inmunohistoquímica en biopsias de rutina.

**CD20**

Se trata de una fosfoproteína no glicosilada de membrana, involucrada en la regulación de la célula B. Se usa como marcador de primera línea para definir la línea B. Su expresión se pierde en el proceso de maduración terminal de la célula B.

El desarrollo de un anticuerpo monoclonal (rituximab) dirigido contra el CD20 ha puesto de manifiesto la necesidad de la estandarización en la interpretación de la inmunohistoquímica y por otro lado la necesidad de utilizar marcadores de línea B alternativos en los casos de recaídas de pacientes tratados con inmunoterapia previa (rituximab).

**CD30**

La inmunoquimioterapia con el anticuerpo conjugado anti-CD30 (brentuximab vedotina) se ha estudiado en pacientes con linfoma Hodgkin y no Hodgkin CD30+ refractarios o en recaída. Brentuximab vedotina está aprobado para el tratamiento de pacientes adultos con linfoma Hodgkin CD30+ en recaída o refractario, después de trasplante autólogo o tras al menos dos líneas previas de tratamiento, y también para pacientes adultos con linfoma T anaplásico de células grandes sistémico en recaída o refractario.

**CD 52**

Es una glicoproteína presente en la superficie de linfocitos maduros, monocitos y células dendríticas. Alemtuzumab es un anticuerpo monoclonal dirigido contra CD52. Esta terapia se ha usado en los últimos años en el tratamiento de la leucemia linfática crónica, entre otros.

**CD19**

Es una glicoproteína de membrana que regula el desarrollo, maduración y diferenciación de los linfocitos B. Históricamente utilizado como marcador de linea B en los linfocitos mediante citometría de flujo, en los últimos años, su papel como diana para la terapia con CARTs ha promovido su detección mediante inmunohistoquímica. Aunque la expresión de CD19 no es imprescindible para el uso de la terapia es relevante conocerla en casos de recaídas tras el tratamiento.

**MARCADORES PRONÓSTICOS**

**P53**

La mutación de p53 es uno de los factores de mal pronóstico más robustos en pacientes con leucemia linfática crónica y linfoma de células del manto que reciben tratamiento estándar de primera línea, teniendo impacto tanto en la supervivencia libre de enfermedad como en supervivencia global. Es además una alteración genética secundaria común en progresión/transformación de linfomas de bajo grado a linfoma B de célula grande. Sin embargo, no en todas las entidades existe una buena correlación entre su expresión por inmunohistoquímica y la presencia de la mutación.

**Zap-70**

Esta proteína se expresa de forma fisiológica en linfocitos T y no en células B. Sin embargo, estudios de expresión génica identificaron su expresión en leucemia linfática crónica y además su expresión correlaciona con el estado mutacional de las inmunoglobulinas, y por tanto tiene impacto pronóstico. Los casos positivos para Zap-70 tienden a ser no mutados y tener peor pronóstico. La expresión de Zap-70 puede valorarse por citometría de flujo y también por inmunohistoquímica en material parafinado.

**MYC**

La translocación de *MYC* con el gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (y en algunos casos con la cadena ligera) es la alteración genética característica del linfoma de Burkitt. Sin embargo, esta alteración citogenética se ha descrito en otros linfomas que no cumplen criterios de Burkitt y muestran cariotipos más complejos; por ejemplo los llamados linfomas «double hit» u otros linfomas difusos de célula grande B. Los resultados publicados sugieren que la presencia de la translocación podría conferir mayor agresividad a estos tumores y podrían ser subsidiarios de regímenes terapéuticos alternativos. Actualmente existe un anticuerpo capaz de reconocer la expresión nuclear de MYC y que podría ser utilizado como cribado inicial para seleccionar los casos con alteraciones de *MYC*. Aunque debe ser utilizado con cautela, puesto que un resultado negativo por inmunohistoquímica no excluye completamente la presencia de una alteración estructural en el gen

**CONTROL DE CALIDAD**

Todas las determinaciones analíticas del laboratorio, en especial las técnicas de inmunohistoquímica, deberían estar sometidas a un control de calidad interno y externo. El uso de controles internos es especialmente necesario para aquellos marcadores que no muestran control intrínseco en el tejido estudiado, como es ALK. Para el resto, el tejido estudiado suele contener control intrínseco, por ejemplo, células del microambiente tumoral, que ayudan a discernir cuándo un estudio es negativo o no valorable. No obstante, la participación en programas externos de garantía de la calidad, como el programa GCP de la SEAP, u otros como el UKNEQAS o NordiQC que permiten mantener nuestro nivel de sensibilidad y especificidad y detectar alteraciones de la normalidad antes de que se produzca un error diagnóstico basado en evidencias erróneas.

Algunos programas de control de calidad como el GCP (www.seap.es/calidad), permiten acceso a los mejores protocolos actualizados para cada marcador y pueden ser útiles a la hora de tomar decisiones cuando ponemos a punto un nuevo marcador en el laboratorio.

Los autores desean agradecer a Blanca González su colaboración en este capítulo.

**Bibliografía**

1. www.e-immunohistochemistry.info
2. www.seap.es/calidad
3. www.nordiqc.org
4. www.proteinatlas.org
5. http://www.ihcworld.com/general_IHC.htm

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL:
# Estudio citogenético-FISH

**Sonia Gonzalez de Villambrosia**
*Unidad de Citogenética Hematológica, Servicio de Hematología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IDIVAL, Santander, España*

## INTRODUCCIÓN

La citogenética es la parte de la genética que estudia la apariencia microscópica de los cromosomas y sus anomalías en la enfermedad.

El conjunto de técnicas citogenéticas ha sido y continúa siendo clave para la correcta orientación terapéutica de pacientes onco-hematológicos. Las neoplasias linfoides representan un grupo ampliamente heterogéneo de enfermedades tanto clínica como biológicamente. En la práctica habitual, el diagnostico de las neoplasias linfoides se puede establecer con precisión mediante un enfoque multidisciplinario que incluye características citomorfológicas, inmunofenotípicas, citogenéticas y moleculares. La citogenética ha contribuidos de manera importante al perfeccionamiento de la clasificación de los LNH de la organización mundial de la salud (OMS) y mejorar la subclasificación de los linfomas de células B maduras(Alaggio et al., 2022; Campo et al., 2022). En la práctica habitual, el cariotipo y la hibridación fluorescente in situ (FISH) permiten identificar tanto eventos oncogénicos impulsores con valor diagnóstico como anomalías cromosómicas secundarias que tiene un impacto pronóstico en varios LNH de células maduras.

## CITOGENÉTICA CONVENCIONAL

### Definición

La citogenética es la parte de la genética que se dedica al estudio de los cromosomas, su estructura y herencia. El cariotipo es el conjunto completo de los cromosomas de un individuo, ordenado según el tamaño y el patrón de bandas. Para su estudio el patrón de bandas más utilizado en citogenética es el de bandas G, que resulta en unas bandas más oscuras y otras más claras.

### Tipos de muestras

El estudio de las anomalías cromosómicas a través del cariotipo se puede realizar en muestras de diferentes tipos, que deben remitirse en tubo de heparina sódica o en su defecto de litio. Para las neoplasias linfoproliferativas, la muestra ideal es una biopsia ganglionar y/o líquidos biológicos infiltrados (líquido cefalorraquídeo, pleural, ascítico, humor vítreo, etc). Para aquellos pacientes con

evidencia de expresión en sangre periférica y/o infiltración de médula ósea, estas muestras serán una buena alternativa.

En general, es una técnica fácil de realizar en la mayoría de los linfomas de células B indolentes con expresión en SP, MO y/u otros líquidos. Por el contrario, los linfomas de células B de alto grado con infiltración ganglionar o tisular presentan más dificultades, por la dificultad que supone la obtención de material fresco. En este caso, el cariotipo a partir de tejido sólido precisa de un circuito especial que garantice la obtención de biopsias asépticamente no fijadas. Después de una dilaceración mecánica, el cultivo celular se lleva a cabo con una concentración más alta en comparación con las muestras obtenidas de SP o MO. Para la obtención del cariotipo se requiere cultivar las células in vitro con o sin la adición de estimulantes específicos.

En general, un cultivo corto (<24 h o incluso menos para LB) es preferible para LBCG o enfermedades altamente proliferativas, mientras que un cultivo largo (72 h) con mitógenos está indicado para linfomas de células B de bajo grado (Tabla 1). De hecho, el uso de ODN-CpG + IL2 ha demostrado su capacidad para inducir la división de células tumorales en LCM, LCM, linfoma linfoplasmacítico y leucemia prolinfocítica B]. En el caso de material limitado, un cultivo corto único sin mitógenos es apropiado en niños (donde predominan LBAG y LBDCG) y adultos menores de 50 años(Lefebvre et al., 2023).

**Descripción de la técnica**

La técnica de obtención del cariotipo tiene varias etapas

- **Cultivo celular,** cuyas condiciones de cultivo y exposición a mitógenos dependerán de la patología a tratar.
- **Parada de la división celular**: una vez pasado el tiempo de cultivo, se obtienen un máximo de células en división. En este momento, se procede a detener el proceso de la mitosis en metafase mediante la adición de colcemid (colchicina, antimitótico)
- **Choque hipotónico**, para la obtener la disrupción de las membranas celulares y la liberación de los cromosomas de aquellas células que están en metafase empiecen a separarse entre ellos
- **Fijación con solución de** Carnoy, con la finalidad de fijar los cromosomas y eliminar membranas celulares y otras organelas celulares para obtener un pellet con los núcleos en interfase y metafases. Estos pellets pueden conservase en frío (idealmente 20ºC) durante años, estando disponibles para estudios de citogenética convencional y FISH.
- **Extensión, envejecimiento y tinción**: las extensiones deben realizarse con una dilución ajustada y en condicionas adecuadas de humedad y temperatura para la obtención de unos cromosomas adecuadamente separados. El envejecimiento, es el paso necesario para obtener las bandas cromosómicas, tras la exposición a calor o bien con dilución en agua oxigenada. Tras tratamiento con tripsina (enzima que se utiliza en el bandeo de cromosomas, para la digestión de ciertas proteínas en los cromosomas produciendo un patrón característico de bandas claras y oscuras en cada cromosoma) se procede a la tinción de las extensiones, generalmente, colorante Wright o Giemsa (Blanca et al., 2021)

**Tabla 1.** Condiciones de cultivo de las muestras para la obtención del cariotipo.

| Sospecha diagnóstica | Tipo de muestra | Tiempo de cultivo y mitógeno | Concentración celular para MO y SP | Concentración celular para tejidos y líquidos a,b |
|---|---|---|---|---|
| **Neoplasias linfoides fenotipo B de bajo grado (excepto LF)** | SP/MO/T | Cultivo largo con ODN-CpG+IL2:72hc | 1-2M/ml | 2 M/ml |
| **LB,LBAG** | SP/MO/T | Cultivo muy corto sin mitógenos:2-17 h | 1-2 M/ml | 3-5M/mL |
| **LBDCG y LF** | SP/MO/T | Cultivo corto sin mitógenos:17-24 h | 2 M/ml | 3-5M/mL |
| **Linfomas B no especificados** | SP/MO/T | Cultivo corto sin mitógenos:17-24 h<br>Cultivo largo con ODN-CpG+IL2:72hc | 1-2 M/ml | 3-5M/ml<br>2 M/ml |
| **Leucemia prolinfocítica B** | SP/MO/T | Cultivo largo con ODN-CpG+IL2:72hc | 1-2 M/ml | - |
| **Neoplasias linfoides fenotipo T** | SP/MO/T | Cultivo corto sin mitógenos:17-24hc<br>Cultivo largo con PHA: 72 horasc | 1-2 M/ml | 3-5M/mL |
| **Linfoma de células NK** | SP/MO/T | Cultivo corto sin mitógenos:17-24hc<br>Cultivo largo con IL2 72 horasc | 1-2 M/ml | 3-5M/mL |
| **Mieloma múltiple** | SP/MO/T | Cultivo largo sin mitógeno:72hc | 1-2M/ml | 3-5M/mL |

LF: linfoma folicular; LB: Linfoma de Burkitt; LBAG: Linfoma B de alto grado; ODN-CpG+IL2: oligodeoxinucleótido (DSP30)+ interleucina 2; M: millón; PHA: phytohemagglutinin

a. En linfomas con alto índice proliferativo, a menudo una baja concentración celular puede resultar en un cariotipo informativo.

b. En caso de escasez de muestra, se puede considerar un cultivo corto sin mitógeno en población pediátrica y adultos < 50 años con neoplasias de células B.

c. La duración del cultivo puede ser adaptada:48-96 horas

## FISH

### Definición y tipos de muestras

La hibridación fluorescente in situ (FISH) permite la detección y localización de una secuencia de ADN específica en un cromosoma. Se basa en la hibridación del genoma celular con «sondas», pequeñas cantidades de ADN purificado marcado con un fluorocromo. La sonda marcada con fluorescencia se unirá por complementariedad a la región de estudio, permitiendo la identificación de determinadas anomalías numéricas y/o estructurales.

Se puede llevar a cabo en una gran variedad de muestras:

- *Tejido fresco*: muestras de sangre periférica, médula ósea o ganglio linfático. El medio de transporte se realizará en tubos de EDTA o tubos de heparina sódica/litio.
- *Muestras procedentes del cultivo de citogenética* (pellets de Carnoy extendidos sobre el portaobjetos)
- *Extensiones celulares:* muestras extendidas sobre un portaobjeto procedentes de extensiones citológicas convencionales o con citocentrífuga, improntas, frotis de SP, etc. Para ello, será necesario la fijación con metanol o con Carnoy.
- *Líquidos biológicos (ascítico, pleural, líquido cefalorraquídeo, etc.) o suspensiones celulares procedente de disgregados tisulares (ganglios o cualquier otro tejido con infiltración tumoral).*
- *Poblaciones celulares purificadas por métodos inmunomagnéticos o de citometría de flujo.*
- *Tejido parafinado. La técnica se realiza sobre cortes de tejido de 2-4* µm de grosor. Se requiere la eliminación de la parafina del tejido para su procesamiento. El protocolo técnico y la interpretación puede resultar más laborioso.

**Tipos de sondas**

**Sondas de locus específico o secuencia única**

Hibridan con el ADN de una región genómica concreta, correspondiente a un gen o a una banda cromosómica. Permiten la detección de deleciones, amplificaciones, así como otras alteraciones estructurales que dependerán del tipo de sonda empleada.

Para la detección de los reordenamientos se utilizan 2 tipos de sondas:

- Sondas de tipo Break apart: están constituidos por dos zonas marcadas con dos fluorocromos distintos que flanquean el punto de rotura de un mismo gen involucrado en un reordenamiento (translocación, inversión). En una muestra con la presencia de reordenamiento las señales de fluorescencia aparecerán separadas. Son útiles para el estudio de reordenamientos en los que los genes diana presentan múltiple posibles «partners». Ejemplos de estas posibles sondas son: *IGH, ALK, BCl2, BL6, MYC, MALT, IRF4*, etc. Las sondas de tipo break apart en general son más fáciles de interpretar y por lo general son suficientes para la identificación de reordenamientos recurrentes, es la sonda de elección para el estudio de FISH en tejido. En caso de neoplasias in situ (linfoma folicular in situ o LCM in situ), especialmente debe tenerse especialmente cuidado y dirigir el estudio a las áreas limitadas afectadas por el linfoma.
- Sondas de doble fusión o dual fusión: se utilizan para detectar translocaciones cromosómicas, emplean una sonda específica para cada uno de los loci involucrados en la translocación marcados con diferentes fluorocromos. Cuando la muestra presenta dicha alteración se observarán dos señales normales (una señal de cada color de los locis no reordenados) y dos señales de fusión/yuxtaposición de las señales roja y verde (correspondientes a los locis reordenados).

**Sondas centroméricas**

Hibridan con el ADN de la región centromérica y/o pericentromérica (heterocromatina) de un cromosoma concreto. Permita la detección de ganancias o pérdida de cromosomas enteros en metafase o en núcleos en interfase.

**Sonda de pintado cromosómico**

Formadas por una batería de sondas de locus específicos que en su conjunto hibridan con un cromosoma concreto entero. Se pueden utilizar sondas para un único cromosoma o mediante la combinación de distintos fluorocromos, zonas que permitan realizar un cariotipo espectral de todos los cromosomas (SKY o M-FISH). Permite la identificación de alteraciones citogenéticas numéricas y estructurales sobre metafases, siendo especialmente útil en la identificación de los cromosomas implicados en translocaciones complejas o la identificación de cromosomas marcadores.

**Tabla 2.** Criterios de análisis de estudios FISH en función del tipo de sonda y procedencia de la muestra (células en suspensión o tejido parafinado).

| Tipo de sonda | Número mínimo de células a estudio | Punto de corte en células en suspensión | Punto de corte en tejido parafinado |
|---|---|---|---|
| **Sonda centromérico** | 100 núcleos en interfase | Monosomía: > 10 % | Monosomía: > 30-40 % |
| | | Trisomía: > 5 % | Trisomía: > 10 % |
| **Sondas de locus específico** | 100 núcleos en interfase | Deleción con sonda control: > 7-10 % | Deleción con sonda control: > 10-15 % |
| | | Ganancia: >5 % | Ganancia: >10 % |
| | | Reordenamiento: >1-5 % | Reordenamiento: >10 % |
| **Sondas de pintado cromosómico** | 10 metafases | Mínimo 2 metafases con la misma alteración | - |

Los puntos de corte de cada sonda deben establecerse en cada laboratorio utilizando 10-20 muestras de individuos sanos (contrastar)

**Técnica de FISH**

Consta de las siguientes fases:

- **Fijación**: la fijación de la muestra tiene como objetivo la preservación del ADN y de la morfología de la muestra.
- **Pretratamiento**, con el fin de optimizar la accesibilidad de la sonda al ADN de la muestra, permeabilizando las membranas celulares y nucleares. Dependiendo del tipo celular y tisular se utilizarán pretratamientos más o menos agresivos.
- **Desnaturalización**: La muestra de ADN (cromosomas metafásicos o núcleos en interfase) se desnaturaliza, proceso que separa las hebras complementarias de la estructura en doble hélice del ADN.
- **Hibridación**: Proceso por el cual el ADN de la sonda se une con el ADN de la muestra por complementariedad de bases. Esto se consigue a una temperatura de 37-45 ºC y habitualmente se realiza durante toda la noche. Existen protocolos rápidos con tampones especiales que permiten hibridaciones rápidas con tiempos de incubación de entre 2 y 4 horas
- **Lavados** de post-hibridación. Se realizan para eliminar el exceso de sonda que no se ha unido con el ADN de la muestra problema y las señales inespecíficas.
- **Contratinción**: Permite visualizar el fondo de la preparación, es decir, la cromatina (los cromosomas y los núcleos interfásicos)y así poder observar dónde se localizan las señales de hibridación. El fluorocromo más utilizado es el 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI), que se une al ADN, especialmente a regiones enriquecidas en adenina y timina.

## OTRAS TÉCNICAS DE ESTUDIO CITOGENÉTICO

### Microarrays genómicos

Los microarrays genómicos representan una técnica alternativa para el estudio de las alteraciones numéricas cromosómicas, que pueden escapar a la detección por el cariotipo y/o estudios FISH. Uno de los factores limitantes de esta metodología es su incapacidad para detectar reordenamientos, especialmente para las neoplasias linfoides y la una baja sensibilidad (aproximadamente de un 20 %). Los microarrays genómicos son aplicables dentro de las neoplasias linfoides al LBDCG con alteración del 11 (mirar clasificación) o el linfoma primario mediastínico.

Existen diferentes tipos de microarrays:

- Microarrays de hibridación genómica comparada, sobre un soporte sólido con millones de sondas de ADN que cubren todo el genoma, el ADN de la muestra y el ADN de referencia se digieren y marcan con diferentes fluorocromos (generalmente rojo para el ADN de la muestra y verde para el ADN control). Seguidamente, se hibridan conjuntamente sobre un mismo microarray y mediante un software se capturarán y cuantificarán las intensidades relativas de fluorescencia de los ADN marcadas. La ratio de fluorescencia entre las señales del ADN de la muestra y del ADN de referencia proporciona información sobre el número de copias del genoma de la muestra.
- Técnica para microarrays de polimorfismos de un solo nucleótido cuya ventaja adicional es la capacidad para detectar la pérdida de heterocigosisdad sin alteración en el número de copias, además de la detección de mutaciones y polimorfismos de un único gen o un grupo de pequeños genes.

### Mapeo Genómico Óptico (OGM)

Es una tecnología innovadora destinada a identificar las anomalías cromosómicas, tanto variantes estructurlaes como variantes de número de copias a nivel de todo el genoma. Esta nanotecnología se basa en el análisis óptico de fragmentos de ADN marcados para caracterizar completamente el genoma tumoral con una alta resolución y una buena sensibilidad. Hasta la fecha, se han analizado muy pocos casos de linfoma mediante OGM y se han comparado con pruebas citogenéticas clásicas. Cabe destacar que uno de los principales inconvenientes de la OGM es el uso de fragmentos de ADN de gran longitud, lo que impide su uso en muestras en parafina. La OGM es teóricamente capaz de detectar todo tipo de reordenamientos, incluidos los complejos o crípticos. Dado el creciente número de alteraciones cromosómicas impulsoras en el LNH, la frecuencia de reordenamientos crípticos o complejos y la evidencia de relevancia clínica de las ganancias cromosómicas en algunas entidades, la OGM, como tecnología citogenómica de próxima generación, podría completar o incluso reemplazar los análisis citogenéticos estándar en el LNH. Sin embargo, la viabilidad, la eficacia y el rendimiento diagnóstico de la OGM en los linfomas aún está en fase de investigación. (Al-Amer & Khubrani, 2024; Levy et al., 2024)

## RECOMENDACIONES DE ESTUDIOS CITOGENÉTICOS EN LAS NEOPLASIAS LINFOIDES

En la Tabla 3 se resumen los estudios citogenéticos recomendados según el subtipo histológico(Akkari et al., 2024; de Leval et al., 2022; Gaillard et al., 2023; Lefebvre et al., 2023).

- De manera global, se recomienda la realización del cariotipo siempre que haya disponibilidad de muestra con infiltración por la neoplasia linfoide a estudio. El cariotipo resulta no informativo cuando la infiltración tumoral es inferior al 10 %.
- Los estudios de FISH en metafase permiten identificar y localizar con precisión inserciones crípticas de los principales oncogenes (MYC, BCL2, *CCND1*) o secuencias reguladoras del gen

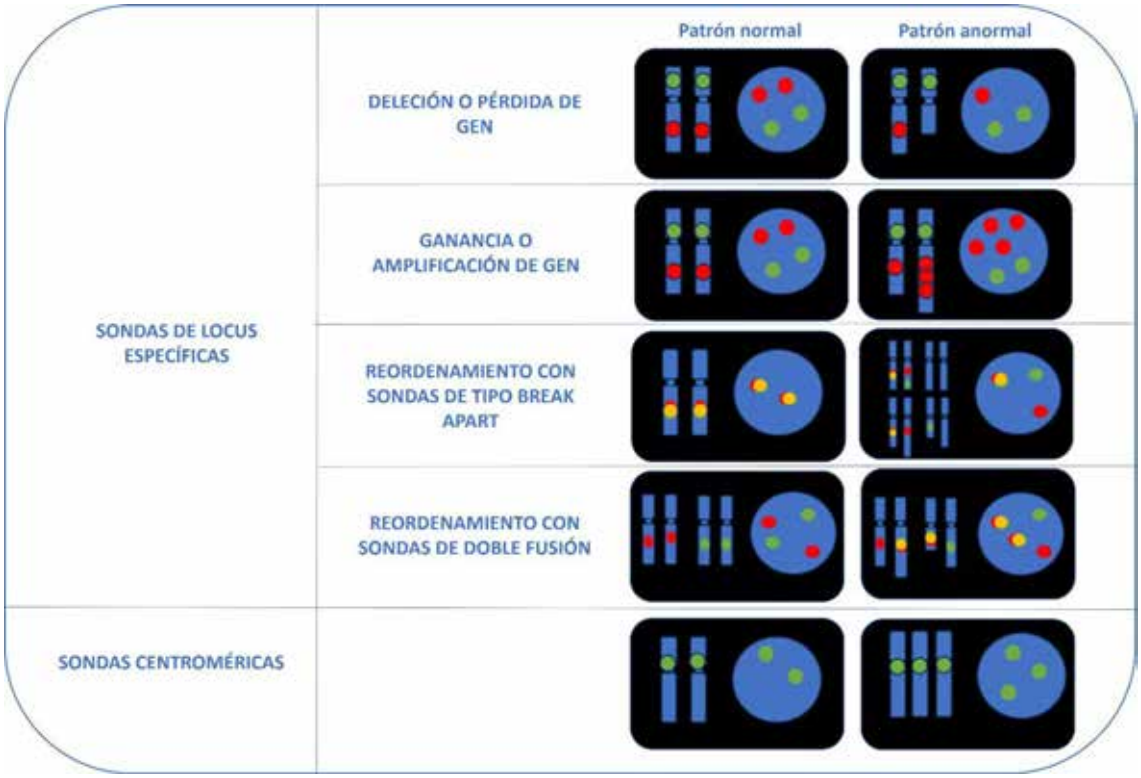
IG. El cariotipo convencional y los microarrays genómicos junto con el FISH deben combinarse para detectar las anomalías diagnósticas.

- En el caso de los linfomas agresivos de células B, la FISH se ha vuelto crucial en el enfoque diagnóstico para discriminar entre LB, LBDCG/HGBCL-MYC/BCL2, LBDCG, NOS u otros subtipos genéticos poco frecuentes. Se puede lograr una orientación diagnóstica rápida a través de un amplio panel de sondas FISH que podrían realizarse de forma simultánea o secuencial. Se recomienda el uso secuencial de la sonda de doble fusión IGH/MYC para evitar los casos fasos negativos (2-5 %) descritos utilizando una única sonda de ruptura de MYC(May et al., 2010; Muñoz-Mármol et al., 2013).
- En el caso de las neoplasias linfoides T los estudios están restringidos a unos determinados subtipos histológicos. En el caso de la leucemia prolinfocítica T y el linfoma anaplásico de células grandes (ALK, DUSP22, p63) estos estudios son cruciales, mientras que en el resto de subtipos su importancia es secundaria. Los estudios citogenómicos puede proporcionar información importante que puede contribuir al diagnóstico y pronóstico del resto de neoplasias linfoides T.

**Tabla 3.** Estudios de FISH recomendables según el subtipo histológico.

| Diagnóstico | Cariotipo | FISH |
|---|---|---|
| Linfoma Folicular | Recomendable | BCL2<br>BCL6 si BCL2 – o LF/LBDCG |
| Linfoma del manto | Obligatorio si infiltración de MO/SP | IGH/*CCND1* o *CCND1*<br>CCND2,CCND3 si *CCND1* no reordenado<br>*TP53*, MYC, CDKN2A[a] |
| LZM esplénico | Obligatorio si infiltración de MO/SP | IGH, *TP53* |
| LZM ganglionar | Recomendable | 3q(BCL6), 18q(MALT) |
| Linfoma MALT | Recomendable | Si t(14::18) reordenado:MALT1<br>Si MALT1 no reordenado : BCL2 |
| Leucemia B prolinfocítica | Obligatorio | MYC, *TP53* |
| Linfoma linfoplasmacitico/EW | Recomendable | 6q21/q23,cen4<br>*TP53* |
| Linfoma Burkitt | Obligatorio si infiltración de MO/SP | MYC, BCL2, BCL6<br>IGH:MYC si MYC no reordenado |
| LBDCG.GCB y LBAG | Obligatorio<br><br><br>Recomendable | MYC (BA)<br>IGH/MYC SI MYC no reordenado<br>BCL2 si MYC Reordenado<br>BCL6 |
| LBDCG 11q | Recomendable | 11q23/11q24, MYC, IGH/MYC |
| LBDCG-IRF4 | Recomendable | IRF4,MYC,BCL2<br>IGH si IRF4 negativo |
| Linfoma 1º mediastínico | Recomendable | PDL1/ JAK2 |
| Linfoma T anaplásico | Recomendable | ALK, DUSP22, p63<br>Si ALK-: DUSP22 y/o TP63 |
| Leucemia prolinfocítica T | Obligatorio | TCL1A<br>TCRA-D y TCRB si TCL1A negativo |
| Leucemia/linfoma células T del adulto | Opcional | CDKN2A, CD274/PDCD1LG2 |
| Linfoma T hepatoesplénico | Recomendable | 7q22/7q31 |
| Linfoma indolente de células T enteropático | Opcional | JAK2 |

**Figura 1.** Esquema de los patrones normales y alterados utilizando diferentes tipos de sondas de FISH en interfase.


Patrón normal
Patrón anormal
DELECIÓN O PÉRDIDA DE GEN
GANANCIA O AMPLIFICACIÓN DE GEN
REORDENAMIENTO CON SONDAS DE TIPO BREAK APART
REORDENAMIENTO CON SONDAS DE DOBLE FUSIÓN
SONDAS DE LOCUS ESPECÍFICAS
SONDAS CENTROMÉRICAS

**Bibliografía**

1. Akkari, Y., Baughn, L. B., Kim, A., Karaca, E., Raca, G., Shao, L., & Mikhail, F. M. (2024). Section E6.1-6.6 of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) Technical Laboratory Standards: Cytogenomic studies of acquired chromosomal abnormalities in neoplastic blood, bone marrow, and lymph nodes. Genetics in Medicine : Official Journal of the American College of Medical Genetics, 26(4), 101054. https://doi.org/10.1016/j.gim.2023.101054

2. Al-Amer, O. M., & Khubrani, Y. (2024). Cytogenetics and the Revolution of Optical Genome Mapping in the Diagnosis of Diseases. Discovery Medicine, 36(188), 1780–1788. https://doi.org/10.24976/Discov.Med.202436188.164

3. Alaggio, R., Amador, C., Anagnostopoulos, I., Attygalle, A. D., Araujo, I. B. de O., Berti, E., Bhagat, G., Borges, A. M., Boyer, D., Calaminici, M., Chadburn, A., Chan, J. K. C., Cheuk, W., Chng, W.-J., Choi, J. K., Chuang, S.-S., Coupland, S. E., Czader, M., Dave, S. S., … Xiao, W. (2022). The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leukemia, 36(7), 1720–1748. https://doi.org/10.1038/s41375-022-01620-2

4. Blanca, E., María, E., Blanco, L., Costa, D., Cuatrecasas, E., & Ruiz-Xivillé, N. (2021). Con el aval científico: ANÁLISIS CITOGENÓMICOS APLICADOS A NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS RECOMENDACIONES PREANALÍTICAS ANALÍTICAS Y POSTANALÍTICAS.

5. Campo, E., Jaffe, E. S., Cook, J. R., Quintanilla-Martinez, L., Swerdlow, S. H., Anderson, K. C., Brousset, P., Cerroni, L., de Leval, L., Dirnhofer, S., Dogan, A., Feldman, A. L., Fend, F., Friedberg, J. W., Gaulard, P., Ghia, P., Horwitz, S. M., King, R. L., Salles, G., … Zelenetz, A. D. (2022). The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the

Clinical Advisory Committee. Blood, 140(11), 1229–1253. https://doi.org/10.1182/blood.2022015851

6. de Leval, L., Alizadeh, A. A., Bergsagel, P. L., Campo, E., Davies, A., Dogan, A., Fitzgibbon, J., Horwitz, S. M., Melnick, A. M., Morice, W. G., Morin, R. D., Nadel, B., Pileri, S. A., Rosenquist, R., Rossi, D., Salaverria, I., Steidl, C., Treon, S. P., Zelenetz, A. D., … Scott, D. W. (2022). Genomic profiling for clinical decision making in lymphoid neoplasms. Blood, 140(21), 2193–2227. https://doi.org/10.1182/blood.2022015854

7. Gaillard, J.-B., Chapiro, E., Daudignon, A., Nadal, N., Penther, D., Chauzeix, J., Nguyen-Khac, F., Veronese, L., & Lefebvre, C. (2023). Cytogenetics in the management of mature T-cell and NK-cell neoplasms: Guidelines from the Groupe Francophone de Cytogénétique Hématologique (GFCH). Current Research in Translational Medicine, 71(4), 103428. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.retram.2023.103428

8. Lefebvre, C., Veronese, L., Nadal, N., Gaillard, J.-B., Penther, D., Daudignon, A., Chauzeix, J., Nguyen-Khac, F., & Chapiro, E. (2023). Cytogenetics in the management of mature B-cell non-Hodgkin lymphomas: Guidelines from the Groupe Francophone de Cytogénétique Hematologique (GFCH). Current Research in Translational Medicine, 71(4), 103425. https://doi.org/10.1016/j.retram.2023.103425

9. Levy, B., Kanagal-Shamanna, R., Sahajpal, N. S., Neveling, K., Rack, K., Dewaele, B., Olde Weghuis, D., Stevens-Kroef, M., Puiggros, A., Mallo, M., Clifford, B., Mantere, T., Hoischen, A., Espinet, B., Kolhe, R., Solé, F., Raca, G., & Smith, A. C. (2024). A framework for the clinical implementation of optical genome mapping in hematologic malignancies. American Journal of Hematology, 99(4), 642–661. https://doi.org/10.1002/ajh.27175

10. May, P. C., Foot, N., Dunn, R., Geoghegan, H., & Neat, M. J. (2010). Detection of cryptic and variant IGH-MYC rearrangements in high-grade non-Hodgkin's lymphoma by fluorescence in situ hybridization: Implications for cytogenetic testing. Cancer Genetics and Cytogenetics, 198(1), 71–75. https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2009.12.010

11. Muñoz-Mármol, A. M., Sanz, C., Tapia, G., Marginet, R., Ariza, A., & Mate, J. L. (2013). MYC status determination in aggressive B-cell lymphoma: The impact of FISH probe selection. Histopathology, 63(3), 418–424. https://doi.org/10.1111/his.12178

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Estudio molecular

**Santiago Montes Moreno**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IDIVAL, Santander*

## DEFINICIÓN

Se incluyen aquí técnicas de detección de alteraciones genéticas que identifican mutaciones y/o reordenamientos génicos. Éste es un campo en continua expansión en el ámbito experimental, especialmente a partir del desarrollo de técnicas de secuenciación masiva. Se incluye un detalle de las diferentes determinaciones y la evidencia disponible que apoya su uso en diagnóstico clínico.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

Las técnicas de análisis molecular persiguen la detección de alteraciones en el ADN, esencialmente mutaciones y reordenamientos. La calidad del ADN extraído de una muestra es variable en función del procesamiento que haya sufrido. Así, el ADN obtenido de muestras en fresco o criopreservadas en medio OCT (incluyendo muestras de tejido, aspirado de médula ósea y sangre periférica) es de calidad superior al ADN obtenido de tejidos fijados en formol e incluidos en parafina. Esto obliga a realizar un control de calidad del ADN previo a cualquier determinación molecular que valore la integridad del mismo. El protocolo recomendado mide la amplificación de fragmentos de ADN de tamaño conocido (100-400 pb)

## TIPOS DE ESTUDIO MOLECULAR Y METODOLOGÍA DISPONIBLE

### Análisis de clonalidad linfoide B y T

En la mayoría de los casos con sospecha de proceso linfoproliferativo el estudio histopatológico y citomorfológico, complementado con inmunohistoquímica y citometría de flujo permite discriminar entre procesos benignos y malignos y, en caso de ser neoplásico, subclasificar el tipo de neoplasia según la OMS. No obstante, en 5-10 % de los casos los hallazgos histopatológicos no son convincentes o existe una discordancia clínico-patológica. El diagnóstico de neoplasia linfoide se puede apoyar en la identificación de clonalidad ya que >98 % de las neoplasias linfoides contienen receptores de inmunoglobulina (Ig) y/o receptor de células T (TCR) reordenados de forma clonal. Existen protocolos técnicos e interpretativos estandarizados a nivel europeo por el grupo Euroclonality/Biomed2 que son los que recomienda esta guía. Estas recomendaciones estandarizan las condiciones técnicas del ensayo (sets de cebadores recomendados, condiciones de amplificación y control de calidad del ADN, electroforesis capilar y análisis de resultados), así como la interpretación de los mismos y su incorporación a un informe de diagnóstico molecular. Este informe de diagnóstico molecular debe ser integrado al informe de diagnóstico histopatológico como un estudio complementario y así tenido en cuenta en el contexto del caso en el diagnóstico definitivo. En este punto es esencial tener en cuenta

las limitaciones de sensibilidad de la técnica por un lado y, por otro lado, que la presencia de poblaciones clonales no es suficiente, per se, para un diagnóstico de proceso linfoproliferativo.

Paneles de identificación de clonalidad linfoide:

- En el caso de sospecha de linfoproliferativo de línea B:
  - **Panel de primera línea**: Clonalidad de IgH VH-JH (3 tubos, FR1, FR2, FR3), preferiblemente con estudio de IGK Vk-Jk e IGK Kde (2 tubos).
  - **Panel de segunda línea** (si no se detecta clonalidad pero aún se sospecha): IGH DH-JH e IGL (2 tubos).
- En el caso de sospecha de linfoproliferativo de línea T:
  - **Panel de primera línea**: Clonalidad de TCRB Vβ-Jβ, TCRB Dβ-Jβ (3 tubos), preferiblemente con estudio de TCRG (2 tubos).
  - **Panel de segunda línea** (en caso de sospecha de linfoproliferativo T γδ): TCRD (1 tubo).

**Estudio de la mutación de MYD88- L265P**

La presencia de la mutación L265P en el gen MYD-88 se ha descrito asociada al linfoma B linfoplasmacítico de tipo IgM/enfermedad de Waldestrom, gammapatía monoclonal de significado incierto de tipo IgM, un porcentaje de casos de linfoma B linfoplasmacítico de tipo no-IgM y aislados casos de otros tipo de linfoma B de célula pequeña (i.e linfoma esplénico de la zona marginal, leucemia linfocítica crónica B). No se encuentra en casos de mieloma múltiple. Asimismo se encuentra en un porcentaje apreciable de casos de LBDCG NOS, especialmente de tipo ABC y localización extraganglionar y la variante de Linfoma B difuso de célula grande de tipo piernas («*leg type*»), linfoma B de célula grande primario testicular y Linfoma B difuso de célula grande primario cerebral. La mutación MYD88/L265P se puede encontrar asociada a mutaciones somáticas en CD79B, conformando los casos denominados MCD o C5, según la clasificación genética.

La detección de la mutación MYD88/L265P se ha demostrado de utilidad en el diagnóstico diferencial de procesos linfoproliferativos B de bajo grado en muestras de MO de modo que su presencia apoya el diagnóstico de linfoma linfoplasmacítico en casos de linfoma B de bajo grado inclasificable.

El estudio de mutaciones de MYD88 se recomienda realizarlo con técnicas de PCR cuantitativa convencional o alelo específica (sensibilidad ~ 0,1 %), que proveen de una sensibilidad adecuada.

**Estudio de las mutaciones en la vía MAPK (BRAF-V600E, MAP2K1)**

La presencia de la mutación V600E en el gen BRAF es la marca genética de la leucemia de células peludas (LCP) encontrándose en virtualmente todos los casos de este tipo de linfoproliferativo y en muy aislados casos de los linfoproliferativos B de bajo grado que la simulan (linfoma esplénico y tricoleumia variante). Asimismo, se ha encontrado en histiocitosis de células de Langerhans (~60 %), sarcoma histiocítico (~60 %) y en la enfermedad de Erdheim-Chester (~60 %). Esta mutación es un potencial marcador de terapia dirigida en LCP y procesos histiocitarios.

El estudio de la mutación de BRAFV600E se puede realizar con técnicas de Sanger convencional (sensibilidad ~ 10 %), pirosecuenciación (sensibilidad ~ 5 %), PCR cuantitativa convencional o alelo específica (sensibilidad ~ 0,1 %), así como metodologías basadas en NGS (de Next Generation Sequencing).

Existe asimismo un anticuerpo específico de la mutación (clon VE1) que es válido en muestras FFIP, incluso tras procesos de decalcificación.

La presencia de mutaciones en MAP2K1 (MEK1) se da en ~20 % de los casos de histiocitosis de células de Langerhans y enfermedad de Erdheim Chester. Se recomienda tratar de identificar las

mutaciones en BRAFV600E y MAP2K1 en aquellos casos con histiocitosis de tipo L y un diagnóstico impreciso y en los pacientes con fallo a la terapia de primera línea. Estas mutaciones en MAP2K1 se encuentran asimismo en ~50 % de los casos de tricoleucemia variante y ocasionalmente (~10 %) en casos diagnosticados como linfoma B difuso de la pulpa roja esplénica.

**Otras determinaciones moleculares de potencial utilidad clínica**

Otras determinaciones moleculares de potencial utilidad clínica son el estudio de perfiles de expresión génica y análisis de mutaciones somáticas derivadas de los estudios de secuenciación masiva.

**Tabla 1.** Alteraciones somáticas en linfoma.

| Patología | Alteración genética recurrente |
|---|---|
| Leucemia linfocítica crónica B/linfoma B linfocitico de célula pequeña | Mutaciones somáticas en *TP53*, NOTCH1, ATM, SF3B1. |
| Linfoma B linfoplasmacítico/enfermedad de Waldestrom | Mutaciones somáticas en MYD88 (L265P), CXCR4. |
| Tricoleucemia | Mutaciones somáticas en BRAF (V600E). |
| Tricoleucemia variante. | Mutaciones somáticas en MAP2K1. |
| Linfoma B difuso de la pulpa roja esplénica. | Mutaciones somáticas en MAP2K1, p53, NOTCH2, cyclinD3. |
| Linfoma B esplénico de la zona marginal | Mutaciones somáticas en NOTCH2, KLF2, TNFAIP3, MLL2, MYD88, *TP53*. |
| Linfoma B folicular | Mutaciones somáticas en MLL2, EZH2, CREBBP, EP300. |
| | Mutaciones somáticas en MAP2K1 y TNFRSF14 en el LF tipo pediátrico. |
| Linfoma B de células del manto | Mutaciones somáticas en ATM, CCDN1, MLL2, *TP53*, BIRC3, WHSC1. |
| Linfoma B difuso de célula grande NOS | Mutaciones somáticas en MYD88, CD79B, CARD11. |
| Linfoma de Burkitt | Reordenamientos aislados de MYC, Mutaciones somáticas en MYC, ID3, GNA13, *TP53*, SMARCA4. |
| Linfoma B de alto grado DH | Reordenamientos de MYC y BCL2. |

| | |
|---|---|
| Leucemia de células T grandes granulares | Mutaciones somáticas en STAT3 y STAT5B. |
| Linfoma T hepatoesplénico | |
| Linfoma T/NK | |
| Micosis Fungoide | Mutaciones somáticas en PLCG1, CD28, RhOA. |
| Linfomas T con fenotipo T folicular (LTAI y equivalentes) | Mutaciones somáticas en RHOA, TET2, IDH2, DNMT3A, CD28, PLCG1. |
| Linfoma T anaplásico | Reordenamientos de ALK. Reordenamientos de DUSP22 y p63 en Linfoma T anaplásico ALK-. |
| Histiocitosis del grupo L (de células de Langerhans, ECD) | Mutaciones somáticas en BRAF (V600E), Mutaciones somáticas en MAP2K1. |

**Firmas de expresión en LBDCG basadas en PCR cuantitativa digital.**

Recientemente se han desarrollado métodos de clasificación de los casos de LBDCG usando la tecnología Nanostring a partir de ARN extraído de tejido parafinado y un método basado en PCR cuantitativa digital.

Los perfiles de expresión permiten subclasificar los casos en las variantes moleculares de LBDCG GCB, ABC y *unclassified* (Lymph2Cx), así como determinar la firma del Linfoma B mediastínico primario (Lymph3Cx) o el *Double Hit Gene Expression Signature*. El uso de estos paneles actualmente se limita al entorno de investigación y de los ensayos clínicos.

**Grupos genéticos en LBDCG.**

Recientemente se han descrito las firmas mutacionales del LBDCG, basadas en la combinación de mutaciones somáticas, alteraciones en número de copias y reordenamientos. Estas firmas genéticas se asocian con la célula de origen y tienen potencial impacto pronóstico y terapéutico. Se distinguen 6 grupos genéticos (ST2, BN2, EZB, MCD, A53 y N1) y 5 clústeres (C1 a C5). En particular las mutaciones de MYD88L265P y CD79B, que activan NF-kB, son casi exclusivas del subtipo ABC y configuran el grupo MCD y C5. Por otro lado, las alteraciones en EZH2 y BCL2 son más características del subtipo GCB y EZB/C4. El uso de estos paneles y de estrategias como la biopsia líquida para su determinación se limita actualmente al entorno de investigación y de los ensayos clínicos.

**RECOMENDACIONES**

1. Realizar estudio de clonalidad linfoide B y/o T en casos de discordancia entre los resultados de la morfología y el estudio inmunohistoquímico, especialmente si existe alta sospecha clínica de proceso linfoproliferativo. (Grado C, nivel de evidencia IV).
2. Realizar los paneles de primera línea completos de estudio de clonalidad B y/o T en los casos en los que esté indicado. (Grado B, nivel de evidencia III).

3. Poner en contexto morfológico y fenotípico los resultados del estudio de clonalidad. No emitir un diagnóstico de proceso linfoproliferativo basado exclusivamente en el resultado molecular en ausencia de evidencia morfológica y fenotípica (especialmente en lesiones cutáneas o muestras de SP/MO). (Grado B, nivel de evidencia III).

4. La realización del análisis del estudio de clonalidad y su interpretación debe seguir las recomendaciones internacionales disponibles. Si no se dispone de la tecnología o experiencia suficiente derivar el caso a un centro de referencia. (Grado C, nivel de evidencia IV).

5. Realizar estudio de mutaciones de MYD88-L265P en casos de sospecha morfológica y fenotípica de linfoma B linfoplasmacítico, especialmente en casos de linfoma B de bajo grado con diferenciación plasmacítica. (Grado B, nivel de evidencia III). Realizar estudio de mutaciones en CXCR4 en casos seleccionados, en función de la elección terapeutica.

6. Realizar estudio de mutaciones en BRAF-V600E en casos de sospecha de leucemia de células peludas y de la via MAPK (BRAF, MAP2K1, RAS, ARAF) en procesos histiocitarios (histocitosis de células de Langerhans, enfermedad de Erdheim Chester y Sarcoma histiocítico). (Grado B, nivel de evidencia III).

**Bibliografía**


1. Langerak AW, Groenen PJ, Brüggemann M, et al. EuroClonality/BIOMED-2 guidelines for interpretation and reporting of Ig/TCR clonality testing in suspected lymphoproliferations. Leukemia. 2012;26(10):2159-2171.

2. van Dongen JJ, Langerak AW, Brüggemann M, et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. Leukemia. 2003;17(12):2257-2317.

3. de Leval L, Alizadeh AA, Bergsagel PL, et al. Genomic profiling for clinical decision making in lymphoid neoplasms. Blood. 2022;140(21):2193-2227.

4. Jimenez C, Sebastian E, Chillon MC, et al. MYD88 L265P is a marker highly characteristic of, but not restricted to, Waldenstrom's macroglobulinemia. Leukemia. 2013;27(8):1722-1728.

5. Xu L, Hunter ZR, Yang G, et al. MYD88 L265P in Waldenstrom macroglobulinemia, immunoglobulin M monoclonal gammopathy, and other B-cell lymphoproliferative disorders using conventional and quantitative allele-specific polymerase chain reaction. Blood. 2013;121(11):2051-2058.

6. Treon SP, Xu L, Yang G, et al. MYD88 L265P somatic mutation in Waldenstrom's macroglobulinemia. N Engl J Med. 2012;367(9):826-833.

7. Lohr JG, Stojanov P, Lawrence MS, et al. Discovery and prioritization of somatic mutations in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) by whole-exome sequencing. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012;109(10):3879-3884.

8. Pasqualucci L, Trifonov V, Fabbri G, et al. Analysis of the coding genome of diffuse large B-cell lymphoma. Nat Genet. 2011;43(9):830-837.

9. Pham-Ledard A, Prochazkova-Carlotti M, Andrique L, et al. Multiple genetic alterations in primary cutaneous large B-cell lymphoma, leg type support a common lymphomagenesis with activated B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma. Mod Pathol. 2014;27(3):402-411.

10. Pham-Ledard A, Cappellen D, Martinez F, Vergier B, Beylot-Barry M, Merlio JP. MYD88 somatic mutation is a genetic feature of primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type. J Invest Dermatol. 2012;132(8):2118-2120.

11. Fernandez-Rodriguez C, Bellosillo B, Garcia-Garcia M, et al. MYD88 (L265P) mutation is an independent prognostic factor for outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma. Leukemia. 2014;28(10):2104-2106.

12. Dubois S, Viailly PJ, Bohers E, et al. Biological and clinical relevance of associated genomic alterations in MYD88 L265P and non-L265P mutated diffuse large B-cell lymphoma: analysis of 361 cases. Clin Cancer Res. 2016.

13. Wilson WH, Young RM, Schmitz R, et al. Targeting B cell receptor signaling with ibrutinib in diffuse large B cell lymphoma. Nat Med. 2015;21(8):922-926.

14. Ondrejka SL, Lin JJ, Warden DW, Durkin L, Cook JR, Hsi ED. MYD88 L265P somatic mutation: its usefulness in the differential diagnosis of bone marrow involvement by B-cell lymphoproliferative disorders. Am J Clin Pathol. 2013;140(3):387-394.

15. Tiacci E, Trifonov V, Schiavoni G, et al. BRAF mutations in hairy-cell leukemia. N Engl J Med. 2011;364(24):2305-2315.

16. Trifa AP, Popp RA, Cucuianu A, et al. Absence of BRAF V600E mutation in a cohort of 402 patients with various chronic and acute myeloid neoplasms. Leuk Lymphoma. 2012;53(12):2496-2497.

17. Ping N, Wang Q, Wang Q, et al. Absence of BRAF V600E mutation in hematologic malignancies excluding hairy-cell leukemia. Leuk Lymphoma. 2012;53(12):2498-2499.

18. Haroche J, Charlotte F, Arnaud L, et al. High prevalence of BRAF V600E mutations in Erdheim-Chester disease but not in other non-Langerhans cell histiocytoses. Blood. 2012;120(13):2700-2703.

19. Mehes G, Irsai G, Bedekovics J, et al. Activating BRAF V600E Mutation in Aggressive Pediatric Langerhans Cell Histiocytosis: Demonstration by Allele-specific PCR/Direct Sequencing and Immunohistochemistry. Am J Surg Pathol. 2014.

20. Go H, Jeon YK, Huh J, et al. Frequent detection of BRAF(V) (600E) mutations in histiocytic and dendritic cell neoplasms. Histopathology. 2014;65(2):261-272.

21. Badalian-Very G, Vergilio JA, Degar BA, et al. Recurrent BRAF mutations in Langerhans cell histiocytosis. Blood. 2010;116(11):1919-1923.

22. Dietrich S, Glimm H, Andrulis M, von Kalle C, Ho AD, Zenz T. BRAF inhibition in refractory hairy-cell leukemia. N Engl J Med. 2012;366(21):2038-2040.

23. Haroche J, Cohen-Aubart F, Emile JF, et al. Dramatic efficacy of vemurafenib in both multisystemic and refractory Erdheim-Chester disease and Langerhans cell histiocytosis harboring the BRAF V600E mutation. Blood. 2013;121(9):1495-1500.

24. Olson MT, Harrington C, Beierl K, et al. BRAF pyrosequencing analysis aided by a lookup table. Am J Clin Pathol. 2014;141(5):639-647.

25. Tiacci E, Schiavoni G, Forconi F, et al. Simple genetic diagnosis of hairy cell leukemia by sensitive detection of the BRAF-V600E mutation. Blood. 2012;119(1):192-195.

26. Singh RR, Patel KP, Routbort MJ, et al. Clinical validation of a next-generation sequencing screen for mutational hotspots in 46 cancer-related genes. J Mol Diagn. 2013;15(5):607-622.

27. Andrulis M, Penzel R, Weichert W, von Deimling A, Capper D. Application of a BRAF V600E mutation-specific antibody for the diagnosis of hairy cell leukemia. Am J Surg Pathol. 2012;36(12):1796-1800.

28. Emile JF, Abla O, Fraitag S, et al. Revised classification of histiocytoses and neoplasms of the macrophage-dendritic cell lineages. Blood. 2016;127(22):2672-2681.

29. Matutes E, Martinez-Trillos A, Campo E. Hairy cell leukaemia-variant: Disease features and treatment. Best Pract Res Clin Haematol. 2015;28(4):253-263.

30. Martinez D, Navarro A, Martinez-Trillos A, et al. NOTCH1, *TP53*, and MAP2K1 Mutations in Splenic Diffuse Red Pulp Small B-cell Lymphoma Are Associated With Progressive Disease. Am J Surg Pathol. 2016;40(2):192-201.

31. Scott DW, Mottok A, Ennishi D, et al. Prognostic Significance of Diffuse Large B-Cell Lymphoma Cell of Origin Determined by Digital Gene Expression in Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissue Biopsies. J Clin Oncol. 2015;33(26):2848-2856.

32. Ennishi D, Jiang A, Boyle M, et al. Double-Hit Gene Expression Signature Defines a Distinct Subgroup of Germinal Center B-Cell-Like Diffuse Large B-Cell Lymphoma. J Clin Oncol. 2019;37(3):190-201.

33. Mottok A, Wright G, Rosenwald A, et al. Molecular classification of primary mediastinal large B-cell lymphoma using routinely available tissue specimens. Blood. 2018;132(22):2401-2405.

34. Chapuy B, Stewart C, Dunford AJ, et al. Molecular subtypes of diffuse large B cell lymphoma are associated with distinct pathogenic mechanisms and outcomes. Nat Med. 2018;24(5):679-690.

35. Schmitz R, Wright GW, Huang DW, et al. Genetics and Pathogenesis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. N Engl J Med. 2018;378(15):1396-1407.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL:
# Informe diagnóstico

**Santiago Montes Moreno**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IDIVAL, Santander*

El informe de diagnóstico anatomopatológico debe resumir e integrar todos los hallazgos obtenidos de la muestra de forma estructurada. Existen referencias de otras sociedades científicas que utilizan protocolos de informe con un formato predefinido o *checklist*. En esta guía se propone sucintamente la estructura y el contenido de un informe de diagnóstico histopatológico de patología hematolinfoide.

## DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA

Se debe especificar el tipo de tejido recibido (ganglio linfático, médula ósea, bazo, otro tejido extraganglionar) y el formato de la muestra (biopsia escisional, incisional, de tipo punción-biopsia con aguja gruesa, PAAF, biopsia y aspirado de MO, pieza de esplenectomía, otros). Se debe consignar si la muestra se recibe en fresco o ya sumergida en algún medio de fijación. Asimismo deben constar las dimensiones máximas de la muestra en caso de biopsia y el tipo de procesamiento (fijación en formol e inclusión en parafina, otros). Si se destina muestra para estudios complementarios (CMF, cariotipo, FISH, molecular) o se incluye parte de la muestra excedente en Biobanco se debe hacer constar en este apartado.

## DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA

Incluye un primer apartado de descripción del patrón histopatológico y de las características citomorfológicas del tejido. En un segundo apartado se deben hacer constar los resultados del estudio inmunohistoquímico.

## DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO

Incluye el término diagnóstico de acuerdo con la actual clasificación (OMS/ICC) de neoplasias del sistema hematolinfoide.

## NOTAS

En este apartado es deseable incluir comentarios relativos a la interpretación de los estudios complementarios en el contexto del diagnóstico histopatológico del caso. Esto es especialmente relevante en lo relativo a los resultados de molecular (clonalidad linfoide, mutaciones somáticas) y de FISH/citogenética, habitualmente de relevancia diagnóstica y pronóstica.

Asimismo, es el espacio conveniente para incluir comentarios acerca del diagnóstico histopatológico en el contexto de los datos clínicos y otros datos de laboratorio proporcionados por el clínico solicitante u obtenidos de la historia clínica.

## ESTUDIOS COMPLEMENTARIOS

En este apartado se debe incluir el resultado detallado de los diferentes estudios complementarios al diagnóstico realizados sobre el material recibido. Esto incluye resultados de molecular, FISH/citogenética o CMF. En el caso de que estos estudios se realicen en un laboratorio distinto al que genera el informe de anatomía patológica se recomienda incluir la información contenida en dicho informe y hacer referencia al laboratorio y personal responsable del análisis. En todo caso los resultados de los estudios complementarios deben integrarse en el cuerpo principal del informe anatomopatológico y si es preciso realizar algún comentario o interpretación sobre los mismos detallarse en el apartado de notas, junto al diagnóstico principal.

## Bibliografía

1. Hussong JW, Arber DA, Bradley KT, Brown MS, Chang CC, de Baca ME, et al. Protocol for the examination of specimens from patients with non-Hodgkin lymphoma/lymphoid neoplasms. Arch Pathol Lab Med. 2010;134(6):e40-

2. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leukemia. 2022;36(7):1720-1748.

3. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. Blood. 2022;140(11):1229-1253.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfomas B no Hodgkin: Linfomas B indolentes: Leucemia linfocítica crónica B/Linfoma B linfocítico de célula pequeña

**Mar García García**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa*

## DEFINICIÓN Y FRECUENCIA DE LA ENTIDAD

La leucemia linfática crónica (LLC) es la forma más frecuente de leucemia en adultos de países occidentales, tanto en términos de incidencia como de prevalencia, representando alrededor el 30 % del total. La LLC es más habitual en hombres que en mujeres, con una edad media al diagnóstico de 72 años. Existe una susceptibilidad genética heredada para la LLC, con un riesgo de seis a nueve veces mayor para los familiares de pacientes con LLC.

La mayoría de los pacientes se encuentran asintomáticos en el momento del diagnóstico, de manera que la enfermedad se descubre de forma accidental al realizar un hemograma de rutina. En otros casos el motivo de consulta es la aparición de adenopatías. Menos frecuentemente, los pacientes se presentan con síntomas B, infecciones o complicaciones autoinmunes.

Los criterios diagnósticos están bien establecidos y permanecen sin cambios tras las nuevas clasificaciones (ICC y OMS 5ª edición), siendo necesaria la presencia en sangre periférica (SP) de 5x109 /L linfocitos B clonales mantenidos al menos durante 3 meses. La clonalidad de estos linfocitos debe ser demostrada mediante citometría de flujo (CF).

Se trata de una enfermedad heterogénea desde el punto de vista clínico, con presentación, curso y evolución muy variables. De forma esquemática, se distinguen las siguientes formas de presentación:

- Leucemia linfática crónica (LLC): definida por la presencia de linfocitosis en SP de > $5x10^9$/L linfocitos B monoclonales con fenotipo de LLC, durante al menos tres meses. Además, la presencia de una citopenia causada por un infiltrado típico en médula ósea (MO) establece el diagnóstico de LLC, independientemente del número de linfocitos circulantes o de la afectación ganglionar existente.
- Linfoma linfocítico (LL): caracterizado por la presencia de linfadenopatías, ausencia de citopenias causadas por un infiltrado medular clonal y un número de linfocitos B clonales en SP < $5x10^9$/L. El diagnóstico debe ser confirmado mediante biopsia ganglionar o de otros tejidos afectos.
- Linfocitosis B monoclonal (LBM) tipo LLC: definida por la detección de < $5x10^9$ /L linfocitos B clonales con fenotipo de LLC junto a la ausencia de signos o síntomas relacionados con una

LLC. La OMS 5ª edición diferencia, además, entre: LBM de baja cuantía, cuando la población clonal con fenotipo LLC/LL es < $0.5x10^9$/L y no hay rasgos diagnósticos de proceso linfoproliferativo B; y LBM de tipo LLC/LL, con población clonal ≥ $0.5x10^9$/L, sin otros rasgos diagnósticos de LLC/LL.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

### Sangre periférica

En la mayoría de los casos, el diagnóstico de LLC se realiza en SP en base a la cifra de leucocitos, la fórmula leucocitaria, la morfología observada en el frotis y el inmunofenotipo en la CF.

### Médula ósea

La biopsia de médula ósea (MO) no es necesaria para establecer el diagnóstico y, por lo tanto, no se realiza de forma rutinaria. Sólo se recomienda su estudio en el caso de pacientes con citopenias de origen incierto:

- Para aclarar si son secundarias o no a infiltración medular antes de iniciar cualquier tipo de tratamiento.
- En caso de persistencia de las mismas después de recibir terapia citotóxica, para distinguir si están relacionadas con dicho tratamiento o con persistencia de la enfermedad.

### Ganglio linfático

La biopsia ganglionar, preferiblemente de tipo escisional, tampoco es necesaria en gran parte de los casos, únicamente en aquellos en los que:

- La enfermedad se presenta con afectación ganglionar sin compromiso de SP.
- Se plantea el diagnóstico diferencial con un linfoma del manto.
- Haya sospecha de transformación a un linfoma agresivo debido a un deterioro del estado clínico, aparición de síntomas B, aumento de LDH, rápido crecimiento de ganglios linfáticos, aparición de lesiones extraganglionares, etc…

## CARACTERÍSTICAS CITOLÓGICAS E HISTOPATOLÓGICAS

### Sangre periférica y aspirado medular

El examen del frotis de SP y/o aspirado medular característicamente pone de manifiesto linfocitos de talla pequeña con una alta relación núcleo/citoplasma. El núcleo es redondo y muestra una cromatina en grumos con aspecto grumelèe o en caparazón de tortuga. El nucleolo no suele ser visible. El citoplasma es escaso y se constituye por un ribete perinuclear de aspecto débilmente basófilo. Por otro lado, los linfocitos proliferantes son anormalmente frágiles, por lo que se dislaceran con facilidad en el acto mecánico de la extensión, constituyéndose en las denominadas «sombras de Grumprecht». Además, en estas extensiones pueden identificarse un pequeño porcentaje de células de tamaño más grande con nucleolo prominente (prolinfocitos).

Según la OMS 5ª edición, cuando el número de prolinfocitos es superior a 15 % en SP se establece el diagnóstico de LLC con progresión prolinfocítica. Por otro lado, cuando el número de prolinfocitos es ≥ 55 %, considerados en la previa clasificación como leucemia prolinfocítica, se favorece ahora el diagnóstico de CLL/SLL con progresión prolinfocítica. En estos casos, deberán descartarse antes otras neoplasias linfoides, en especial una transformación de Richter, un linfoma de células del manto y un linfoma B esplénico (de la zona marginal o tricoleucemia variante, principalmente).

### Médula ósea

En la biopsia de MO se describen cuatro patrones de infiltración: intersticial, nodular, mixto y difuso. En general, los tres primeros son los habituales en las fases iniciales de la enfermedad, y el último en las fases avanzadas. Estos infiltrados se constituyen de linfocitos pequeños, con núcleo redondo, cromatina compacta y citoplasma escaso. En esta localización, los centros de proliferación son menos prominentes que en el ganglio y pueden no identificarse.

### Ganglio linfático

En los ganglios, se observa un borramiento parcial o total de la arquitectura debido a un patrón de crecimiento difuso, con áreas más claras entremezcladas, correspondientes a pseudofolículos o centros de proliferación. El infiltrado en su mayor parte se halla constituido por linfocitos de pequeño tamaño de aspecto monomorfo, con núcleo redondo o algo irregular, cromatina compacta en grumos y citoplasma escaso. En los centros de proliferación, además de esta población, se identifican prolinfocitos y parainmunoblastos (de mayor tamaño, cromatina dispersa, nucléolo eosinófilo y con un ribete de citoplasma basófilo). El tamaño, número y visibilidad de los centros de proliferación varía de un caso a otro, pero su presencia es definitoria de la enfermedad. Globalmente, el índice de proliferación es muy bajo en las áreas difusas y algo superior en los centros de proliferación.

Infiltrados correspondientes a LBM pueden ser identificados en ganglios, sin formación de centros de proliferación.

### Otros tejidos

La enfermedad puede afectar de forma menos frecuente la piel, el tracto gastrointestinal, bazo y sistema nervioso central, entre otros. En el bazo, los infiltrados afectan predominantemente pulpa blanca, si bien la pulpa roja puede estar infiltrada también. Cuando la infiltración es difusa, se pierden la arquitectura y los límites entre pulpa blanca y pulpa roja. Por otro lado, en pacientes con LLC, también pueden observarse infiltrados densos patológicos en relación a tumores (por ejemplo, infiltrados peritumorales en cáncer cutáneo no melanoma).

## ESTUDIO INMUNOFENOTÍPICO

Las células de la LLC expresan antígenos propios de linfocitos B como CD19 y CD20 y coexpresan antígenos como CD5 y CD23. Los niveles de las inmunoglobulinas de superficie, CD20 y CD79 b, son característicamente bajos comparados con los encontrados en las células B normales u otros síndromes linfoproliferativos.

Panel de primera línea en CMF: CD19, CD5, CD20, CD23, k y L.

Panel de segunda línea en CMF: CD43, CD79b, CD81, CD200, CD10 y ROR1

Panel de primera línea en IHQ: CD20, CD3, CD5, CD23, LEF1, TP53y ciclina D1/sox11

Panel de segunda línea en IHQ: SOX11, Ki67, IgD y CD43

- Las células de la LLC/LL no expresan CD3 ni CD10.
- En los centros de proliferación se pude identificar expresión de MUM1 y ciclina D1.
- Algunos casos de LLC/LL tienen un inmunofenotipo atípico: CD5- y/o CD43-CD23-, FMC7+.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y FORMAS ESPECIALES

Diagnóstico diferencial

- Linfoma del manto, formas clásica y blastoide
- Linfoma folicular
- Linfoma esplénico de la zona marginal
- Tricoleucemia y tricoleucemia variante (linfoma/leucemia esplénico con nucléolo prominente).

Formas especiales de LLC/LL y transformación histológica.

- Forma histológicamente agresiva, conocida como fase acelerada: se reconoce en el ganglio linfático por la presencia de centros de proliferación muy grandes y confluentes con un tamaño superior a 20X y con elevado índice proliferativo valorado por la presencia de >2,4 mitosis/pseudofolículo o >40 % ki67/pseudofolículo.
- Transformación prolinfocítica: se trata de casos infrecuentes con >15 % de prolinfocitos en SP/MO.
- Pseudo-Richter: se trata de casos que desarrollan hallazgos histopatológicos simulando transformación a linfoma B de célula grande, en el contexto de la interrupción del tratamiento con inhibidores de BTK (ibrutinib).
- Transformación de Richter: el 2-8 % de los pacientes con LLC/LL desarrollan una transformación de Richter en forma de un linfoma B agresivo, como linfoma difuso de célula B grande (LBDCG) de forma más frecuente, o un linfoma de tipo Hodgkin. En este caso, se recomienda analizar el reordenamiento de IGH en la biopsia para comprobar si el linfoma está o no clonalmente relacionado con la LLC, lo que sucede en la mayoría de los casos. En este sentido, los casos sin relación clonal parecen tener una evolución similar a la de los pacientes con LBDCG de novo. Por el contrario, la supervivencia de los pacientes con transformación de Richter asociada clonalmente a la LLC es claramente inferior.
- Presencia de células tipo Reed Sternberg: en algunos casos de LLC/LL pueden identificarse células tipo Reed Sternberg de forma salpicada, en ausencia del contexto inflamatorio del linfoma de Hodgkin clásico. Ello no es sinónimo de una transformación de Richter.

## CITOGENÉTICA Y MUTACIONES SOMÁTICAS

Alrededor el 80 % de los casos de LLC presentan alteraciones citogenéticas cuando se estudian mediante FISH y constituyen uno de los principales factores pronósticos independientes. Las más frecuentes son del(13q14), trisomía 12, del(17p) y del(11q). Por ello, las guías actuales establecen el FISH con estas 4 sondas, del(13q), del(11 q), +12, del(17p), como test obligado antes de iniciar tratamiento.

La detección de translocaciones propias de otros síndromes linfoproliferativos, como la t(11;14) o t(14;18) mediante cariotipo o FISH facilita el diagnóstico de linfoma del manto o el linfoma folicular, aunque no excluye en todos los casos el diagnóstico de LLC.

Por otro lado, con el uso de técnicas se secuenciación masiva no se ha detectado ningún gen alterado patognomónico de la enfermedad, la densidad de mutaciones por caso es relativamente baja comparada con otras neoplasias y la frecuencia de mutaciones aumenta con la evolución de la

enfermedad. En la práctica clínica se recomienda la detección de mutaciones de *TP53* y la determinación del estado mutacional de la región variable de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (IGHV), así como el estudio de mutaciones que confieren resistencia a tratamientos dirigidos contra inhibidores de BTK y BCL2.

- Mutaciones de *TP53*: presentes en 10 % de casos al diagnóstico, 30 % en la progresión o recaída y en el 50 % de los casos que progresan a transformación de Richter. Se recomienda su estudio antes de iniciar la primera y subsiguientes líneas de tratamiento. Por un lado, incrementa el número de casos positivos respecto al análisis de la del(17p) por FISH (en el 5 % de los casos con mutación en *TP53* no hay del(17p13)). Por el otro, los pacientes que presentan del(17p) y/o mutación de *TP53* (frecuencia alélica superior al 10 % mediante secuenciación Sanger de ADN) tienen un pronóstico inferior con mala respuesta a la inmunoquimioterapia convencional y presentan mejores resultados cuando se usan fármacos inhibidores del receptor de células B o de BCL-2.
- Estado mutacional de IGHV: las recomendaciones actuales del iwCLL, ERIC, OMS y ESMO incluyen determinar el estado mutacional de IGHV antes de iniciar el primer tratamiento. Según el grado de homología con respecto a la secuencia de nucleótidos del gen VH entre las células leucémicas y la línea germinal, se distingue entre LLC con IGHV mutado (IGHV-M) (< 98 % de homología) y LLC con IGHV no mutado (IGHV-NM) (≥ 98 % de homología). El estado mutacional de IGHV es estable a lo largo de la enfermedad. Los casos con IGHV-NM tienen peor pronóstico. Alrededor de un 40 % de los pacientes de LLC presentan secuencias de IGHV estereotipadas, casi idénticas, y se pueden clasificar en subsets, algunos de los cuales tienen valor pronóstico independiente del estado mutacional. Actualmente el grupo ERIC recomienda informar al menos de los subsets con valor pronóstico demostrado, como son los subsets #2 (IGHV-NM y M; mal pronóstico), y #8 (IGHV-NM; mal pronóstico, riesgo de transformación Richter elevado).
- Mutaciones de BTK, PLCG2 y BCL2: estas mutaciones constituyen el mecanismo más común de resistencia a tratamiento continuado con fármacos inhibidores de las proteínas BTK (mutaciones en BTK y/o PLCG2) y BCL2. En base a la evidencia actual, ante sospecha de progresión/no respuesta bajo inhibidores de BTK se recomienda el estudio mediante NGS de los exones 14-16 del gen BTK y de los exones 17-30 de PLCG2. Por otra parte, las alteraciones en BCL2 son frecuentes en pacientes con LLC que progresan tras tratamiento continuo con venetoclax. Así, ante sospecha de progresión/no respuesta bajo venetoclax se recomienda el estudio completo de la región codificante del gen BCL2.

## PRONÓSTICO Y FACTORES PREDICTIVOS DE LA EVOLUCIÓN

En la práctica clínica diaria, el estadio de Rai o de Binet ayuda a estratificar a los pacientes en base a datos provenientes de la exploración física y de parámetros de laboratorio (incluir referencias). Pero estos sistemas no identifican los pacientes con un comportamiento agresivo, sobre todo en estadios iniciales, ni la posible respuesta a un determinado tratamiento.

Por ello, se han propuesto otros sistemas pronósticos como el CLL-IPI, que incluye cinco variables con diferente valor pronóstico y que estratifica a los pacientes en distintos grupos de riesgo con diferencias en la supervivencia global (SG): bajo riesgo (0-1 puntos, 93 % SG 5 años), intermedio (2-3 puntos, 79 % SG 5 años), alto (4-6 puntos, 64 % SG 5 años) y muy alto (7-10 puntos, 23 % SG 5 años). Por otro lado, para pacientes con LLC diagnosticados en estadios iniciales, se ha desarrollado un sistema pronóstico internacional para predecir el tiempo hasta el primer tratamiento (TPT) en pacientes con LLC con enfermedad asintomática inicial (International Prognostic Score for Early-stage CLL (IPS-E)). Tres covariables se correlacionan de manera consistente e independiente con el TPT, con valor de 1 punto en cada una: estado mutacional de IGHV, recuento absoluto de linfocitos > 15 x 109/L y presencia de adenopatías palpables. El IPS-E separa a los pacientes de bajo riesgo (puntuación 0), riesgo intermedio

(puntuación 1) y alto riesgo (puntuación 2-3), con un riesgo acumulado de 5 años para el inicio del tratamiento del 8,4 %, 28,4 % y 61,2 %, respectivamente.

## RESPUESTA AL TRATAMIENTO Y TRANSFORMACIÓN

El tratamiento sólo está indicado cuando existen síntomas o signos relacionados con enfermedad activa (síntomas B, conglomerados adenopáticos de gran tamaño o adenopatías de crecimiento progresivo, esplenomegalia progresiva, citopenias progresivas o fenómenos autoinmunes refractarios al tratamiento inmunosupresor). De la misma manera, en la recaída debe existir enfermedad en actividad para indicar tratamiento, la detección de enfermedad tras un tratamiento no es motivo suficiente para administrar un tratamiento de rescate. Por otro lado, el tratamiento en la transformación será el del linfoma en la progresión.

## RECOMENDACIONES

1. Para establecer el diagnóstico de la LLC/LL es esencial realizar un estudio morfológico e inmunofenotípico, mediante citometría de flujo y/o inmunohistoquímica, generalmente de sangre periférica en los casos de LLC y en el ganglio linfático en los casos de LL. Grado C. Evidencia nivel IV.

2. El patólogo puede contribuir a su diagnóstico en casos atípicos, y aportar información valiosa valorando la respuesta al tratamiento. Grado C. Evidencia nivel IV.

3. El diagnóstico de LL generalmente se establece en una biopsia ganglionar y se debe realizar el diagnóstico diferencial con otros linfomas B de célula pequeña. La eventual transformación a un linfoma difuso de célula B grande o, de forma inhabitual, a un linfoma B de tipo Hodgkin, también es un diagnóstico basado en los hallazgos histopatológicos. Grado C. Evidencia nivel IV.

4. El diagnóstico de LLC/LL requiere la colaboración entre el hematólogo y el patólogo. Grado C. Evidencia nivel IV.

5. Las alteraciones citogenéticas son frecuentes en la LLC y un factor pronóstico independiente. Es por ello que se recomienda su estudio mediante FISH y/o cariotipo en todos los casos antes de iniciar el tratamiento. Grado C. Evidencia nivel IV.

6. Se recomienda el estudio del estado de mutación de los genes que codifican la región variable de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas (IGHV) y de las mutaciones de *TP53* en el momento del diagnóstico y/o antes de iniciar tratamiento. Grado C. Evidencia nivel IV.

7. En el caso de una transformación de Richter, se recomienda analizar el reordenamiento de IGH en la biopsia para comprobar si el linfoma está o no clonalmente relacionado con la LLC, la supervivencia de los pacientes con transformación de Richter asociada clonalmente a la LLC es claramente inferior. Grado C. Evidencia nivel IV.

**Figura 1.** A: HE, 2X. A pequeño aumento destaca una proliferación linfoide en la que alternan zonas claras (centros de proliferación) y zonas oscuras. B: HE, 20X. Detalle de un centro de proliferación, con presencia de células de talla grande y nucléolo central (prolinfocitos y parainmunoblastos)

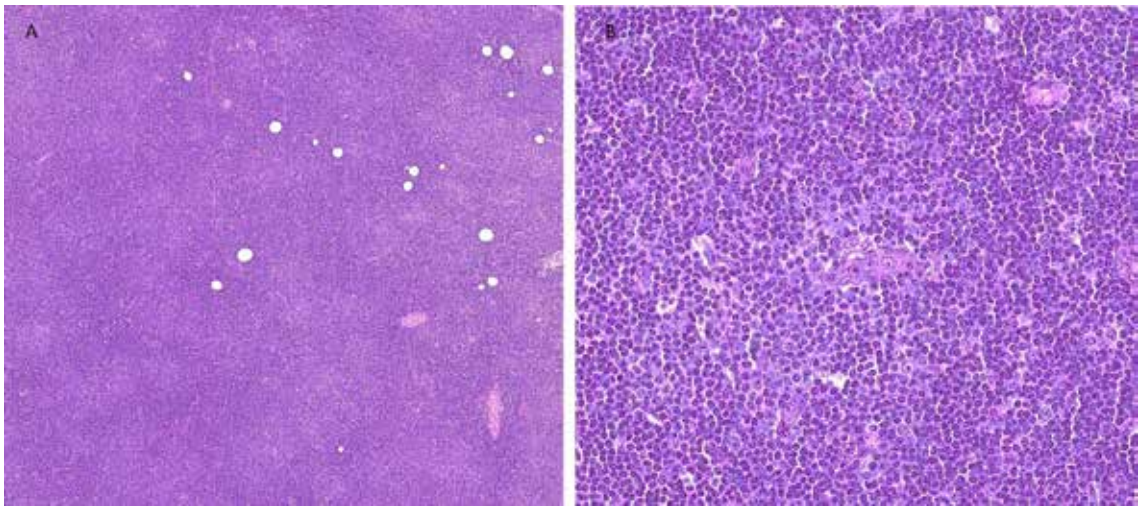



**Figura 2.** HE, 20X. LLC-B histológicamente agresiva: en este caso el centro de proliferación es mayor que el aumento de 20X

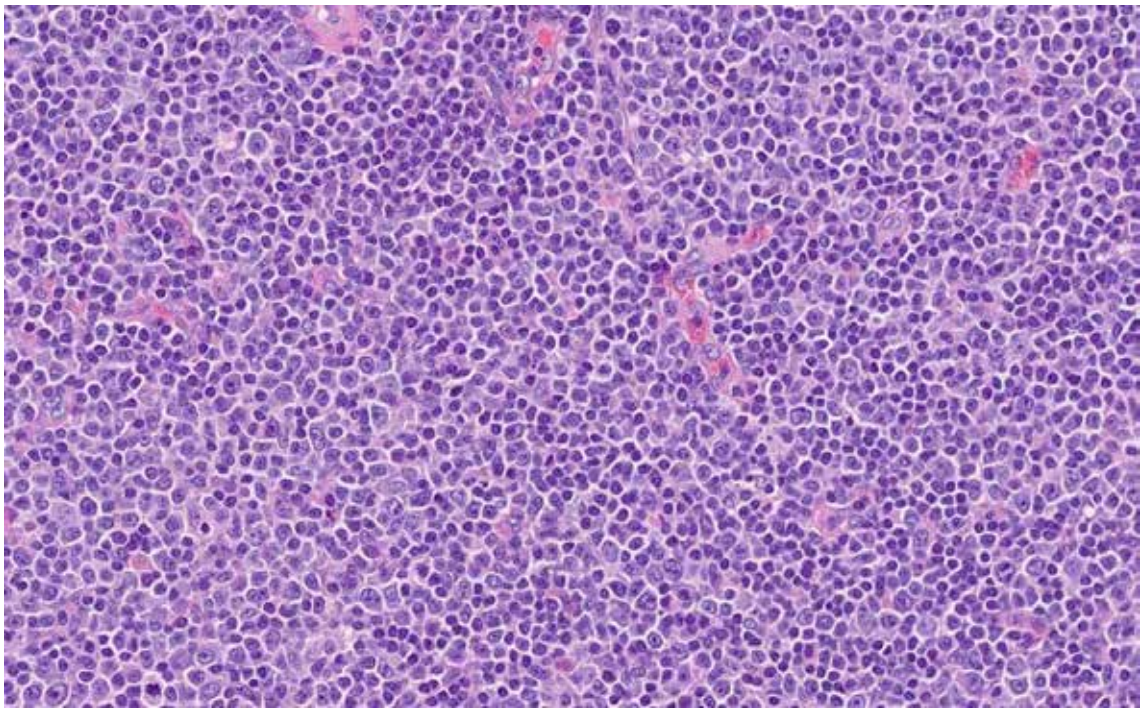
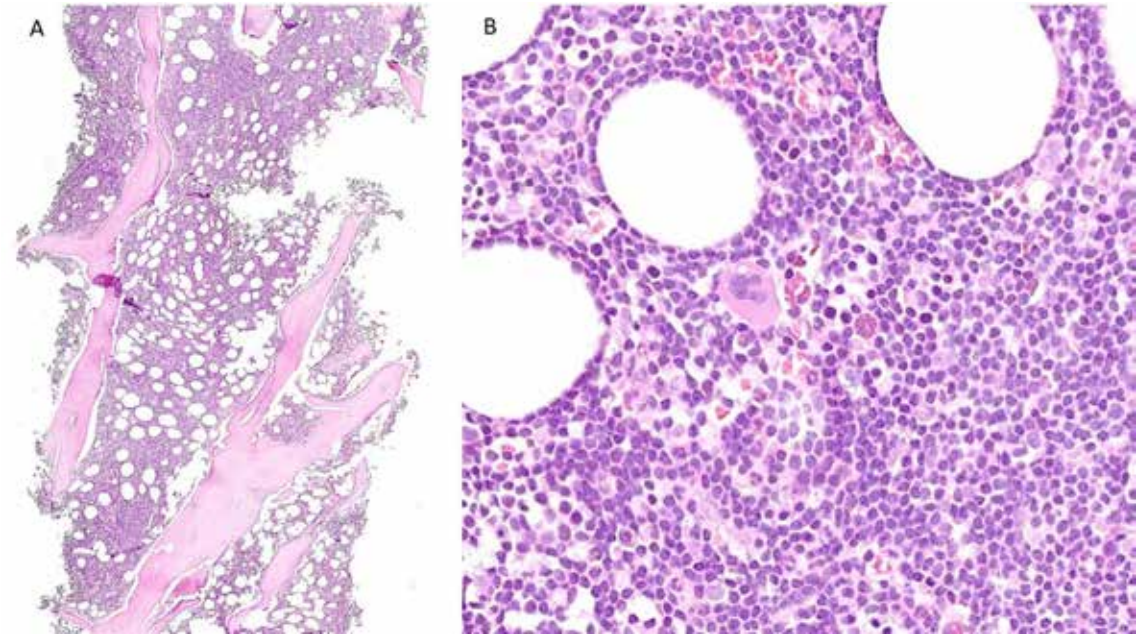


**Figura 3.** Infiltración medular por LLC-B. A pequeño aumento (D, HE, 2X) destaca un tejido medular con infiltración intersticial difusa. A mayor aumento, esta infiltración es a expensas de linfocitos de talla pequeña y aspecto maduro. Se identifican, asimismo, elementos aisaldos de la hematopoyesis normal.




**Bibliografía**

1. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leukemia 2022; 36: 1720-1748.

2. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. Blood 2022; 140: 1229-1253.

3. Woessner S, Florensa L. La citología óptica en el diagnóstico hematológico. 5a ed. Acción Médica, S.A. y Fundación Española de Hematología y Hemoterapia; 2006.

4. Rawstron AC, Kreuzer KA, Soosapilla A, et al. Reproducible diagnosis of chronic lymphocytic leukemia by flow cytometry: An European Research Initiative on CLL (ERIC) & European Society for Clinical Cell Analysis (ESCCA) Harmonisation project. Cytometry B Clin Cytom. 2018;94(1):121– 8.

5. Gradowski JF, Sargent RL, Craig FE, Cieply K, Fuhrer K, Sherer C, Swerdlow SH. Chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma with cyclin D1 positive proliferation centers do not have *CCND1* translocations or gains and lack SOX11 expression. Am J Clin Pathol. 2012 Jul;138(1):132-9.

6. Soma LA, Craig FE, Swerdlow SH. The proliferation center microenvironment and prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma. Hum Pathol. 2006 Feb;37(2):152-9.

7. King RL, Gupta A, Kurtin PJ, Ding W, Call TG, Rabe KG, Kenderian SS, Leis JF, Wang Y, Schwager SM, Slager SL, Kay NE, Koehler A, Ansell SM, Inwards DJ, Habermann TM, Shi M, Hanson CA, Howard MT, Parikh SA. Chronic lymphocytic leukemia (CLL) with Reed-Sternberg-like cells vs Classic Hodgkin lymphoma transformation of CLL: does this distinction matter? Blood Cancer

J. 2022 Jan 28;12(1):18. doi: 10.1038/s41408-022-00616-6. PMID: 35091549; PMCID: PMC8799721.

8. Baliakas P, Espinet B, Mellink C, et al. Cytogenetics in Chronic Lymphocytic Leukemia: ERIC Perspectives and Recommendations. Hemasphere. 2022;6(4):e707.
9. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. Blood. 2018;131(25):2745–60.
10. Eichhorst B, Robak T, Montserrat E, et al. Chronic lymphocytic leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2021;32(1):23–33.
11. Knisbacher BA, Lin Z, Hahn CK, et al. Molecular map of chronic lymphocytic leukemia and its impact on outcome. Nat Genet. 2022;54(11):1664–74.
12. Stilgenbauer S, Schnaiter A, Paschka P, et al. Gene mutations and treatment outcome in chronic lymphocytic leukemia: results from the CLL8 trial. Blood. 2014;123(21):3247–54.
13. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, Pasternack BS. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. Blood. 1975;46(2):219–34. 38.
14. Binet JL, Auquier A, Dighiero G, et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. Cancer. 1981;48(1):198–206.
15. International CLL-IPI working group. An international prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL-IPI): a meta-analysis of individual patient data. Lancet Oncol. 2016;17(6):779-790.
16. Condoluci A, Terzi di Bergamo L, Langerbeins P, et al. International prognostic score for asymptomatic early-stage chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2020;135(21):1859–69.
17. Crespo M, Medina A, Muntañola A et al. Guía de práctica clínica para el diagnóstico y tratamiento de la leucemia linfocítica crónica y el linfoma linfocítico de células pequeñas. [Internet]. Madrid; 2024. Disponible en: https://www.gellc.es/guias-clinicas/24-guia-gellc-2024-pdf/file

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfomas B no Hodgkin: Linfomas B indolentes: Linfoma folicular

**Empar Mayordomo Aranda[1], Santiago Montes Moreno[2]**

1. *Servicio de Anatomia Patologica, Hospital Universitario La Fe, Valencia*
2. *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IDIVAL, Santander*

## DEFINICIÓN Y SUBTIPOS

- Neoplasia linfoide de células B maduras centrofoliculares (centrocitos y centroblastos) de patrón nodular predominante.
- Engloba tanto el linfoma folicular, como la neoplasia folicular de células B in situ (NFIS), LF de tipo pediátrico y FL de tipo duodenal.

## FRECUENCIA Y FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS

- Es un linfoma frecuente. Representa el 20 % de todos los linfomas.
- Más frecuente en Europa y EE.UU. que en el resto del mundo.
- En su forma clásica es un linfoma que afecta preferentemetne adultos (6ª década de la vida), sin diferencia entre sexos.

## PRESENTACIÓN CLÍNICA Y EVOLUCIÓN

### Presentación clínica

- Adenopatías generalizadas (sólo el 30 % debuta en estadios I-II), sin otra sintomatología. Es poco frecuente la aparición de síntomas B.
- Frecuente afectación de la médula ósea al diagnóstico (60 % de los casos) y del bazo.
- Menos frecuentemente: piel, anillo de Waldeyer, tubo digestivo, mama y testículos.
- Se ha descrito presentación leucémica (linfocitosis absoluta) del LF en el momento del diagnóstico, aunque varía según las series entre el 4-23 % de los casos.

### Curso clínico y progresión

- Curso clínico prolongado, con remisiones y recurrencias.
- El 25-35 % de los LF presentan transformación histológica. Lo más frecuente es la transformación histológica a LBDCG, pero también puede hacerlo en formas más agresivas como un linfoma B de alto grado DH/TH y con menos frecuencia (1 %) a un linfoma de fenotipo B linfoblástico (de conducta clínica, fenotipo y biología distina al linfoma/leucemia B linfoblástico de novo) o a un linfoma de Hodgkin.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

La **biopsia por escisión** del ganglio linfático o del tejido extraganglionar afectado es la muestra idónea para el diagnóstico de linfoma folicular. Es la única muestra que permite evaluar el tejido por completo por lo que es posible establecer el patrón y el grado con seguridad.

La biopsia con aguja gruesa (BAG) puede estar justificada en casos de adenopatías no accesibles (por ejemplo las retroperitoneales). Es posible alcanzar el diagnóstico de LF con la ayuda de la inmunohistoquímica y la FISH/biología molecular; no obstante debe advertirse mediante una nota al diagnóstico que el diagnóstico puede estar sesgado por el tipo de material remitido (particularmente el grado citológico del tumor o la presencia de áreas de patrón difuso).

La PAAF no es un procedimiento diagnóstico recomendable para el diagnóstico inicial de LF.

La biopsia de M.O tampoco es un método diagnóstico adecuado porque aunque el patrón de infiltración es muy característico (patrón paratrabecular), no es exclusivo. No obstante es el método de elección para la estadificación de todos los casos de linfoma folicular. El aspirado no es suficiente para el diagnóstico dado que no nos permite evaluar el patrón de infiltración.

## MORFOLOGÍA Y GRADOS HISTOLÓGICOS

### Morfología

Borramiento de la arquitectura ganglionar normal.

Patrón nodular, con nódulos compactos, sin polarización, con mantos ausentes o atenuados, en estrecho contacto.

Dos tipos celulares en los folículos: centroblastos (CB) y centrocitos (CC), sin presencia de macrófagos con cuerpos tingibles. La cantidad de CB establecerá el grado del LF.

De forma focal existen CC neoplásicos (generalmente más pequeños que los foliculares) entre los folículos. Este no es criterio de patrón difuso. Si la proporción es superior a 25 % debe indicarse en el informe que existe un patrón difuso (de bajo grado, compuesto de forma predominante por CC).

La presencia de áreas difusas con células CB (de gran tamaño) (equivalente a LF3A) no se considera estrictamente LBDCG actualmente. Solo la presencia de áreas de patron difusa y composición pura en centroblastos (i.e LF3B) es suficiente para el diagnostico de LF concurrente con LBDCG. En este caso incluiremos en el informe el % de cada uno de los componentes (LBDCG en % y LF en %).

En un pequeño porcentaje de LF se advierte un patrón de crecimiento invertido, que remeda al linfoma marginal nodal, no obstante un adecuado estudio inmunohistoquímico nos permitirá diferenciarlo. Así mismo se ha descrito diferenciación marginal, monocitoide e incluso

linfoplasmocítica, fundamentalmente en la periferia de los folículos, formando parte de la población neoplásica. Dicho hallazgo no varía ni el diagnóstico, ni el grado.

**Grado histológico y formas especiales.**

El sistema de gradacion de LF es aplicable y perfmite distinguir claramente **LFc** (clásico) se divide en bajo grado (que engloba grado 1-2) y LFc grado 3A. Dicha gradación, se establece según el número de centroblastos (CB) por campo de gran aumento (CGA a 40X) tal y como se venía haciendo, por lo que debemos contar al menos 10 campos en diferentes folículos, considerando aquellos que morfológicamente veamos de grado mayor.

Grado 1: 0-5 centroblastos/10CGA; Grado 2: 6-15 centroblastos/10CGA; Grado 3A: >15 centroblastos/10CGA (con centrocitos (CC) presentes).

Se reconocen formas citológicamente inusuales, de morfología intermedia o blastoide y de centrocitos grandes hendidos. Son diagnóstico diferencial del linfoma de células B grandes con reordenamiento de IRF4.

**LF** de patrón de crecimiento predominantemente **difuso (LF BCL2t negativo, CD23 positivo)**.

**LF de células grandes (LFCG, previamente reconocido como LF 3B).** Es una neoplasia infrecuente, de patron folicular, con remanentes de CDFs pero una composición pura de centroblastos. Ocasionalmente se identifica LBDCG concurrente. En estos casos es mas infrecuente detectar reordenamientos de BCL2 y se aconseja descartar la presencia de reordenamientos de IRF4 en caso de sobreexpresión intensa concurrente de BCL6 y MUM1 mediante IHQ.

**Afectación de la médula ósea**

Existe frecuentemente afectación medular al diagnóstico y típicamente suele ser paratrabecular, aunque puede mostrar patrones de afectación intersticial, nodular y difuso. No es necesario el estudio inmunohistoquímico en todos los casos, aunque sí recomendable, fundamentalmente si el patrón no es paratrabecular clásico.

El estudio IHQ nos permite detectar infiltrados sutiles desde el punto de vista morfológico y descartar la presencia de nódulos mixtos intramedulares reactivos. Para ello utilizaremos CD20 y CD3 y en caso de duda CD10/BCL6 y BCL2. En casos con terapia previa con antiCD20 es útil el uso de otros marcadores B como PAX5 y CD79.

**INMUNOFENOTIPO**

El linfoma folicular típicamente expresa marcadores B (CD20, CD79, CD19, OCT2 y PAX5), marcadores de centro folículo (BCL6, CD10, LMO2, GCET1) y BCL2. Puede resultar de ayuda el CD21 y/o CD23, que marcan las células dendríticas foliculares, para distinguir entre folículos confluentes y áreas difusas. En ocasiones se observa expresión de CD23 por las células neoplásicas, fundamentalmente cuando el patrón es difuso.

No es necesario utilizar todos los marcadores de estirpe B, pero sí al menos 2 en aquellos casos en que el paciente haya sido tratado con rituximab, porque el CD20 puede ser negativo completamente.

El linfoma folicular típicamente *no* expresa CD3, ciclina D1 ni MNDA. MNDA es un marcador de utilidad para el diagnostico diferencial de Linfoma B folicular y Linfoma de la zona marginal ganglionar. Se han descrito LF con expresión de CD5; así como LF CD10-MUM1+.

BCL2 se sobreexpresa en la mayoría de los casos de cLF. Un porcentaje significativo de LF de grado 3A, puede ser negativo para BCL2 y carecer de t(14;18). Incluso, hasta el 10 % de los casos con t(14;18)

pueden ser negativos para BCL2 utilizando el clon usual (clon 124). En este último caso el uso de clones alternativos (E17, SP66) puede ser de utilidad para desenmascarar la pseudonegatividad. El LFCG suele ser negativo para BCL2, al igual que el linfoma folicular de patron predominantemente difuso y el linfoma folicular de tipo pediatrico.

El índice de proliferación (Ki67) no es necesario para el diagnóstico, ni para establecer el grado, aunque puede ser de utilidad para el diagnóstico diferencial con hiperplasia linfoide reactiva y LBDCG. Generalmente en los LF de bajo grado suele ser <20 % (LF de grado 1-2) y >20 % en LF de alto grado (grado 3a), perdiéndose la polaridad típica de las hiperplasias foliculares.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

### Diagnóstico diferencial

- Hiperplasia folicular reactiva
- Linfoma del manto
- Linfoma linfocítico con centros de proliferación (pseudofolículos) prominentes
- Linfoma de la zona marginal.
- Linfoma de células grandes B con reordenamiento de IRF4. Se debe considerar en casos con LFCG y expresión intensa de MUM1/IRF4.

### Causas de errores diagnósticos

BCL2 puede ser negativo o débilmente positivo en LF, particularmente en el LFc grado 3A, en el LFCG (más del 50 % de los casos) y en la variante de tipo pediátrico. Por tanto, la ausencia de expresión de BCL2 no excluye el diagnóstico de LF.

El LF puede presentar patrones histológicos atípicos: afectación parcial del ganglio, afectación parcial de algunos folículos linfoides no neoplásicos, folículos irregulares serpinginosos, patrón floral, patrón invertido o patrón difuso puro (sin áreas nodulares).

El LF puede estar constituido por tipos celulares atípicos: centroblastos con núcleo lobulado, apariencia blastoide, células en anillo de sello, con diferenciación plasmocelular.

Las células del LF pueden mostrar focalmente una distribución perifolicular, con la apariencia cito-histológica de un linfoma de la zona marginal.

El LF puede mostrar expresión aberrante de CD5 y CD23; y puede ser negativo para CD10, aunque debemos poder demostrar otros marcadores centrofoliculares.

## CITOGENÉTICA Y DATOS MOLECULARES

La translocación t(14;18) que reordena el gen *BCL2* con el gen de las inmunoglobulinas (*IgH*) está presente en el 90 % de los LF clásico (LFc) de bajo grado (1-2), y con menos frecuencia en los de grado 3A.

Debido a la variabilidad en los puntos de ruptura del gen *BCL2*, el método más sensible y específico para la identificación del reordenamiento *BCL2* es la FISH utilizando una sonda tipo break apart (para tejido parafinado) o Dual color dual fusión (muestra MO o SP con infiltración tumoral, o células en

suspensión obtenidas por disrupción mecánica de muestra de tejido). Esta técnica es suficiente para el diagnóstico de rutina de este linfoma.

El estudio por PCR para detectar reordenamientos de BCL2 no es una alternativa en el ámbito diagnóstico por su escasa sensibilidad.

El estudio citogenético con muestras estimuladas 72 horas con TPA no es imprescindible para el diagnóstico de LF, aunque si recomendable, siempre que sea posible, ya que permite identificar anomalías secundarias con potencial valor pronóstico. Los cariotipos complejos con más de seis anomalías, las translocaciones que afectan al 8q24 (*MYC*), las deleciones de 1p, 6q, 17p así como las ganancias del cromosoma 12 o 18p entre otros parecen asociarse a un pronóstico desfavorable.

Se recomienda el estudio del reordenamiento del gen *BCL2* por FISH en los casos con inmunofenotipo aberrante y/o patrón histológico atípico.

Se recomienda el estudio de clonalidad linfoide B en los casos de linfoma B folicular de tipo pediátrico.

Otras translocaciones son raras en el LF, pero pueden ocurrir. En LF de grado 3 sin la t(14;18) es recomendable emplear la sonda *break-apart* para *BCL6* (el reordenamiento de *BCL6* está presente en el 5-15 % de los LF). Asimismo, existe un subgrupo de Linfomas B de celula grande de fenotipo GCB con reordenamientos de IRF4/MUM1 (2).

El subgrupo de LF difuso carecen de la fusión IGH::BCL2 y presentan mutaciones frecuentes en STAT6 junto con deleción de 1p36 o mutación en TNFRSF14.

Inusualmente se pueden detectar reordenamientos de MYC en casos de LF (<5 %), incluso casos con doble hit o triple hit (MYC/BCL2, MYC/BCL2/BCL6). Estos reordenamientos no se han asociado al grado citológico en LF. El impacto clínico de estos hallazgos citogenéticos en casos con patron histopatológico de linfoma folicular es incierto. No se recomienda testar de forma habitual los casos de LF para la detección de reordenamientos en MYC.

Recientemente se han descrito mutaciones puntuales en EZH2 en una fracción significativa de LF, con potencial impacto en la respuesta a determinados esquemas terapéuticos. Igualmente se han desarrollado modelos pronósticos basados en la firma mutacional del LF (m7-FLIPI) de potencial uso clínico.

## PRONÓSTICO Y FACTORES PREDICTIVOS DE LA EVOLUCIÓN

La extensión de la enfermedad en el momento del diagnóstico y el Índice Pronóstico Internacional para LF (FLIPI) son importantes factores pronosticos.

En el FLIPI-2, la afectación de la médula ósea en LF se considera de manera específica un factor pronóstico adverso, aunque su utilidad en la práctica asistencial está siendo evaluada.

El grado histológico es un buen factor pronostico del curso de la enfermedad y del riesgo de transformacion a LBDCG.

La presencia de áreas difusas en LF de grado 1-2 no influye en el pronóstico. Es esencial distinguir entre un patrón difuso de bajo grado y la concurrencia de LBDCG y LF.

## VARIANTES DEL LINFOMA FOLICULAR

### Neoplasia folicular in situ

El término linfoma folicular in situ en la nueva edición de la OMS ha sido sustituido por el de neoplasia folicular in situ; en cambio sus criterios diagnósticos no han variado.

El diagnóstico se establece cuando observamos una arquitectura ganglionar conservada, frecuentemente con un patrón predominante de hiperplasia linfoide reactiva, pero con expresión intensa, en un numero variable de folículos de CD10 y BCL2. Se excluyen los casos que presentan en la misma biopsia áreas que cumplen criterios de LF convencional con infiltración parcial del ganglio linfatico. Es particularmente informativa, en este diagnostico diferencial la presencia de infiltración interfolicular.

El riesgo de evolución a LF establecido de lesiones aisladas e incidentales de neoplasia folicular in situ es muy bajo. No obstante, en un porcentaje significativo de los casos los pacientes tienen LF establecido en el momento de este diagnostico (confirmado en otra biopsia) o lo desarrollan a corto plazo. Otro subgrupo de casos se identifica en el momento del diagnostico de otras neoplasias linfoides, no LF.

En el momento del diagnostico de neoplasia folicular in situ es recomendable insistir en la necesidad de un adecuado despistaje clínico de linfoma establecido (estudios de imagen y biopsia de medula osea si existe sospecha clínica de linfoma establecido).

### Linfoma folicular de tipo duodenal

La región de aparición más frecuente es la segunda porción del duodeno, aunque puede aparecer en cualquier localización del tracto gastrointestinal. La presentación clínica suele ser en forma de múltiples pólipos sin sintomatología clínica específica. En ocasiones incluso inexistente. El estadiaje clínico es bajo y rara vez se observan progresiones clínicas a linfomas sistémico o transformación histologica. El pronóstico es excelente incluso sin tratamiento especifico, recomendándose una actitud conservadora.

## LINFOMAS FOLICULARES SIN TRASLOCACION DE BCL2.

### Linfoma folicular de tipo pediátrico

Es una variante de LF que suele aparecer en varones, niños pero que ha sido descrita también en adultos. Es pde localización ganglionar estrictamente, frecuentemente cervical, aunque puede presentarse en adenopatías inguinales, femorales o axilares.

Morfológicamente presenta folículos irregulares, con capa del manto atenuada y monomorfismo celular (células grandes, de aspecto blastoide, o difícilmente clasificable), con variable expresión de BCL2, sin reordenamiento del gen *BCL2*. Tampoco se han detectado reordenamiento de *BCL6*, IRF4 ni *c-myc*. Resulta por tanto necesario determinar clonalidad linfoide B. Recientemente se han descrito mutaciones somaticas (MAP2K1 y TNFRSF14) distintas a las usuales en LF convencional. Se debe realizar dianostico diferencial con hiperplasia folicular linfoide reactiva, linfoma B de la zona marginal de tipo pediatrico y linfoma de células grandes con reordenamientos de IRF4.

Clínicamente la enfermedad tiene un excelente pronóstico, por lo que el manejo clínico debe ser conservador.

**Linfoma folicular primario testicular**

Localización extraganglionar frecuente, no sólo en niños, sino también en adultos. Estadiaje clínico bajo (1E generalmente), afectación unilateral y pronóstico excelente. Hay que recordar que suelen no expresar BCL2, ni presentar la t(14;18).

**Linfoma folicular de patron predominantemente difuso (Negativo para traslocación de BCL2 y CD23+)**

Se trata de un linfoma poco frecuente, de localización típicamente, aunque no exclusivamente inguinal, con un patrón de crecimiento difuso, de bajo grado. El estudio inmunohistoquímico muestra expresión de marcadores de centrofolículo, expresión variable de BCL2 y, expresion de CD23. No se observan reordenamientos de BCL2, habiéndose descrito otras alteraciones moleculares como la del1p36 y mutaciones en STAT6.

**Linfoma B centrofolicular cutaneo**

Se discute en el capitulo de linfomas primariamente cutáneos.

**RECOMENDACIONES**

1. El LF se presenta típicamente en la edad adulta con adenopatías generalizadas. No obstante no debemos olvidar que puede presentarse como enfermedad extraganglionar (LF de tipo duodenal), localizada (LF variante difusa), en forma leucémica y en edad temprana (LF de tipo pediátrico). Grado C. Evidencia nivel IV.
2. El grado histológico del LF (1-2, 3A) debe aparecer en el informe anatomopatológico. Grado C. Evidencia nivel IV.
3. Existen casos de LFc, concurrente con LBDCG. En este caso se debe informar como LBDCG concurrente con Linfoma folicular del grado que corresponda, expresando los porcentajes de ambos. Grado C. Evidencia nivel IV.
4. El panel inmunohistoquímico de primera línea para el diagnóstico de LF debe incluir: CD20, CD3, BCL2, BCL6, CD10, CD5 y Ki67. Grado C. Evidencia nivel IV.
5. El panel inmunohistoquímico de segunda línea para el diagnóstico de LF puede incluir: MUM1, MNDA, otros marcadores B (PAX5, OCT2), CD21, CD23, p53 y en función de CD5, ciclina D1. Grado C. Evidencia nivel IV.
6. En la biopsia de estadiaje de MO es preciso realizar estudio IHQ con CD20 para descartar infiltrados sutiles morfológicamente. PAX5 puede ser de utilidad en pacientes previamente tratados con inmunoterapia (anti-CD20). Grado C. Evidencia nivel IV.
7. El LF in situ cambia el nombre en la última edición de la OMS, por neoplasia folicular in situ. Es conveniente incluir una nota en el informe acerca del significado de la lesión y la conveniencia de realizar un estudio clínico para descartar LF establecido u otro tipo de linfoma (técnicas de imagen, TAC y biopsia de MO). Grado C. Evidencia nivel IV.
8. El estudio citogenético no es imprescindible para el diagnóstico de LF aunque si recomendable, especialmente en los casos de morfología o fenotipo atípicos. Grado C. Evidencia nivel IV.
9. Se recomienda el estudio por FISH del reordenamiento de BCL2 con sondas de tipo break appart para cortes de parafina y dual fusión para extensiones. Grado C. Evidencia nivel IV.

**Figura 1.** Imagen comparando un folículo reactivo (A) y un folículo neoplásico (B). Nótese la perdida de polaridad y la diferente composición celular. El patron de tinción con Ki67 es útil para distinguir el folículo reactivo del neoplásico.

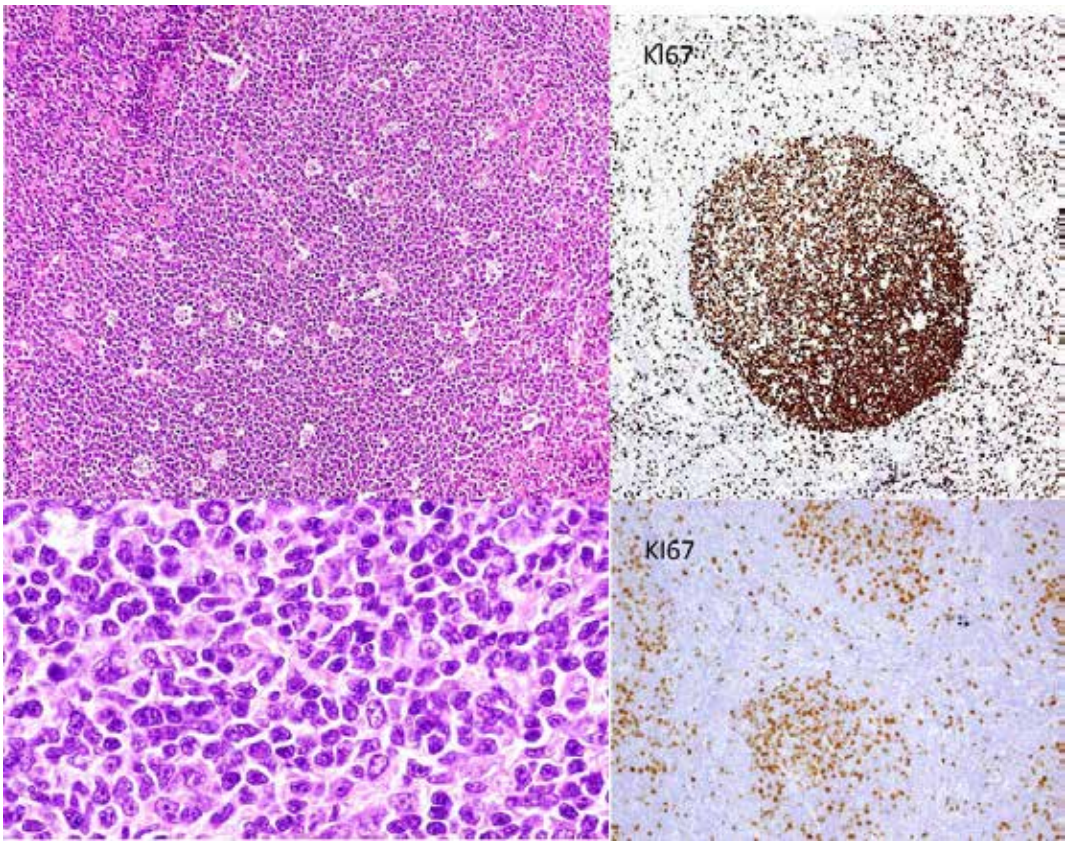



**Figura 2.** Neoplasia folicular in situ.

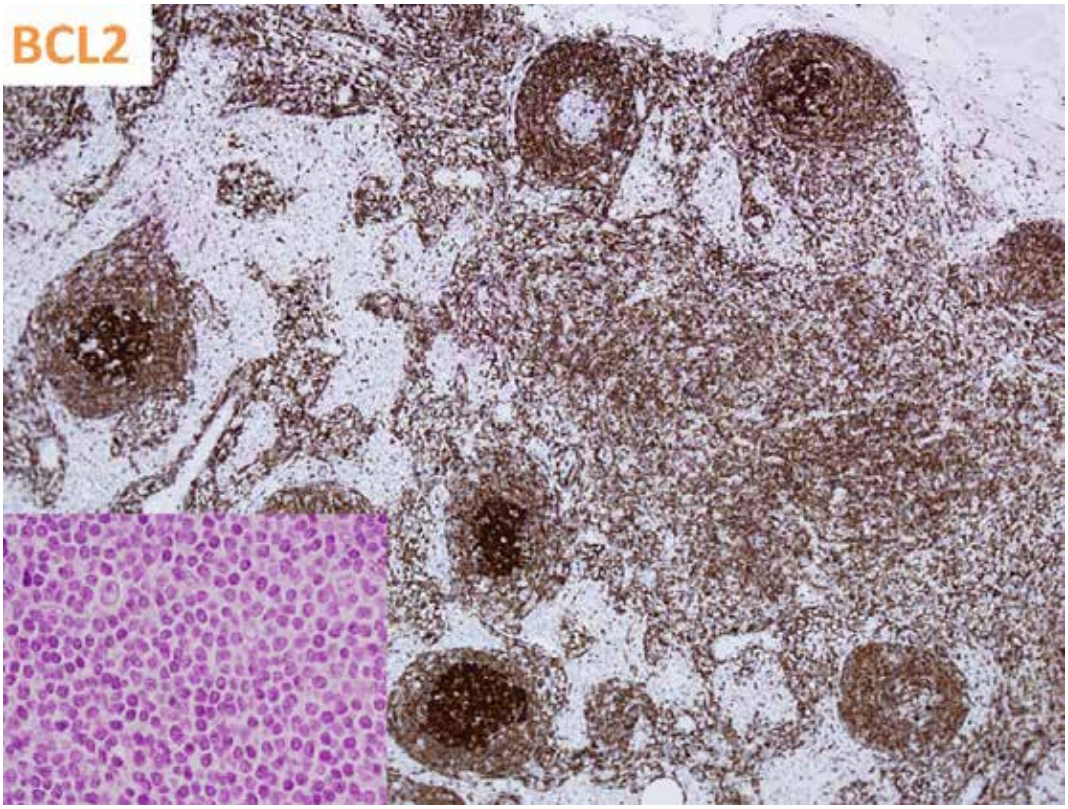
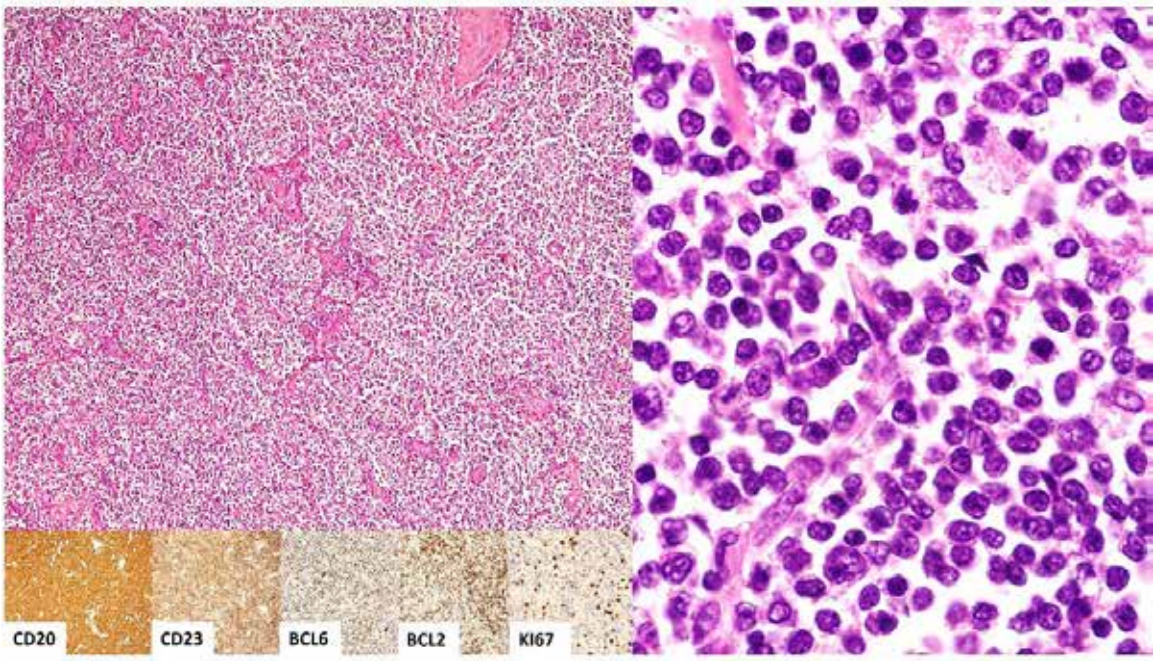


**Figura 3.** Linfoma folicular de patron predominantemente difuso. Patron morfologico y tinciones de inmunohistoquímica representativas.




**Bibliografía**

1. Beltran, B. E., P. Quinones, D. Morales, J. C. Alva, R. N. Miranda, G. Lu, B. D. Shah, E. M. Sotomayor and J. J. Castillo (2013). «Follicular lymphoma with leukemic phase at diagnosis: a series of seven cases and review of the literature.» Leuk Res 37(9): 1116-1119.

2. Salaverria, I., C. Philipp, I. Oschlies, C. et al. Molecular Mechanisms in Malignant Lymphomas Network Project of the Deutsche, G. German High-Grade Lymphoma Study and N. H. L. t. g. Berlin-Frankfurt-Munster (2011). «Translocations activating IRF4 identify a subtype of germinal center-derived B-cell lymphoma affecting predominantly children and young adults.» Blood 118(1): 139-147.

3. Katzenberger, T., J. Kalla, E. Leich, H. Stocklein, E. Hartmann, S. Barnickel, S. Wessendorf, M. M. Ott, H. K. Muller-Hermelink, A. Rosenwald and G. Ott (2009). «A distinctive subtype of t(14;18)-negative nodal follicular non-Hodgkin lymphoma characterized by a predominantly diffuse growth pattern and deletions in the chromosomal region 1p36.» Blood 113(5): 1053-1061.

4. Federico, M., M. Bellei, L. Marcheselli, S. Luminari, A. Lopez-Guillermo, U. Vitolo, B. Pro, S. Pileri, A. Pulsoni, P. Soubeyran, S. Cortelazzo, G. Martinelli, M. Martelli, L. Rigacci, L. Arcaini, F. Di Raimondo, F. Merli, E. Sabattini, P. McLaughlin and P. Solal-Celigny (2009). «Follicular lymphoma international prognostic index 2: a new prognostic index for follicular lymphoma developed by the international follicular lymphoma prognostic factor project.» J Clin Oncol 27(27): 4555-4562.

5. Freedman, A. (2014). «Follicular lymphoma: 2014 update on diagnosis and management.» Am J Hematol 89(4): 429-436.

6. Cong, P., M. Raffeld, J. Teruya-Feldstein, L. Sorbara, S. Pittaluga and E. S. Jaffe (2002). «In situ localization of follicular lymphoma: description and analysis by laser capture microdissection.» Blood 99(9): 3376-3382.

7. Montes-Moreno, S., Y. Castro, S. M. Rodriguez-Pinilla, J. F. Garcia, M. Mollejo, M. E. Castillo, A. Bas-Vernal, C. Barrionuevo-Cornejo, L. Sanchez-Verde, J. Menarguez, J. C. Cigudosa and M. A. Piris (2010). «Intrafollicular neoplasia/in situ follicular lymphoma: review of a series of 13 cases.» Histopathology 56(5): 658-662.

8. Jegalian, A. G., F. C. Eberle, S. D. Pack, M. Mirvis, M. Raffeld, S. Pittaluga and E. S. Jaffe (2011). «Follicular lymphoma in situ: clinical implications and comparisons with partial involvement by follicular lymphoma.» Blood 118(11): 2976-2984.

9. Schmidt, J., I. Salaverria, A. Haake, I. Bonzheim, P. Adam, S. Montes-Moreno, M. A. Piris, F. Fend, R. Siebert and L. Quintanilla-Martinez (2014). «Increasing genomic and epigenomic complexity in the clonal evolution from in situ to manifest t(14;18)-positive follicular lymphoma.» Leukemia 28(5): 1103-1112.

10. Adam, P., T. Katzenberger, M. Eifert, M. M. Ott, A. Rosenwald, H. K. Müller-Hermelink and G. Ott (2005). «Presence of preserved reactive germinal centers in follicular lymphoma is a strong histopathologic indicator of limited disease stage.» Am J Surg Pathol 29(12): 1661-1664.

11. Bermudez G, González de Villambrosía S, Martínez-López A, Batlle A, Revert-Arce JB, Cereceda Company L, Ortega Bezanilla C, Piris MA, Montes-Moreno S (2016). Incidental and Isolated Follicular Lymphoma In Situ and Mantle Cell Lymphoma In Situ Lack Clinical Significance. Am J Surg Pathol. 40(7):943-9

12. Liu, Q., I. Salaverria, S. Pittaluga, A. G. Jegalian, L. Xi, R. Siebert, M. Raffeld, S. M. Hewitt and E. S. Jaffe (2013). «Follicular lymphomas in children and young adults: a comparison of the pediatric variant with usual follicular lymphoma.» Am J Surg Pathol 37(3): 333-343.

13. Schmatz AI, Streubel B, Kretschmer-Chott E, et al. Primary follicular lymphoma of the duodenum is a distinct mucosal/submucosal variant of follicular lymphoma: a retrospective study of 63 cases. J Clin Oncol. 2011;29(11): 1445-1451.

14. Takata K, Sato Y, Nakamura N, et al. Duodenal follicular lymphoma lacks AID but expresses BACH2 and has memory B-cell characteristics [published correction appears in Mod Pathol.2013;26(8):1152]. Mod Pathol. 2013;26(1): 22-31.

15. Kikkeri N. Naresh, et al. Follicular Lymphoma. In: WHO Classification of Tumours Editorial Board. Haematolymphoid tumours. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2024. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). https://publications.iarc.who.int/637.

16. Campo E, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. Blood. 2022 Sep 15;140(11):1229-1253. doi: 10.1182/blood.2022015851. Erratum in: Blood. 2023 Jan 26;141(4):437. doi: 10.1182/blood.2022019016. PMID: 35653592; PMCID: PMC9479027.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfomas B no Hodgkin: Linfomas B indolentes: Linfomas de la zona marginal: Linfoma esplénico de la zona marginal

**Manuela Mollejo Villanueva**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario de Toledo, Toledo*

## DEFINICION Y FRECUENCIA DE LA ENTIDAD

El linfoma esplénico de la zona marginal (LEZM) es un linfoma de células pequeñas y curso clínico indolente caracterizado por infiltración del bazo, médula ósea y sangre periférica. Es poco frecuente, alrededor del 2 % de los síndromes linfoproliferativos. Hay casos asociados al virus de la hepatitis C, y en Africa subsahariana se ha documentado un cuadro idéntico al LEZM con linfocitos vellosos asociado con malaria. El LEZM aparece en personas de edad avanzada (media 65 años) y se manifiesta con esplenomegalia, linfocitosis y citopenias de intensidad variable, debidas principalmente a la esplenomegalia más que a la infiltración de la médula. En el 20 % de los casos pueden detectarse otros fenómenos autoinmunes. En un tercio de los casos se detecta un pico monoclonal, más frecuentemente IgM. Suele haber elevación de β2-Microglobulina y de LDH pero no síntomas B. En un 10-13 % de los casos puede haber transformación a LBDCG, que puede ocurrir en el bazo, ganglios y/o médula ósea, con elevación de LDH, afectación sistémica, síntomas B, aparición de lesiones ocupantes de espacio en el bazo y comportamiento clínico agresivo.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

Los criterios del diagnóstico están recogidos en el documento del «*SMZL working group*» y en la clasificación de las neoplasias hematológicas de la OMS de 2024. El diagnóstico se puede establecer con el estudio de los datos morfológicos, fenotípicos y moleculares de sangre periférica y médula ósea y/o estudio de la pieza de esplenectomía.

**Sangre periférica:** En la sangre periférica casi siempre se detecta una población clonal de linfocitos, que suele ser superior a $5x10^3$/µL, pero sin alcanzar valores superiores a $25x10^3$/µL. En el frotis se observan linfocitos de pequeño y mediano tamaño, células con diferenciación plasmocitoide y se suelen identificar, aunque no siempre, linfocitos vellosos con prolongaciones polares características, aunque su proporción varía en los diferentes casos del 5 % al 90 % de los linfocitos.

**Biopsia médula ósea:** Infiltrado intersticial, intrasinusoidal y nódulos intertrabeculares. La médula está afectada prácticamente en todos los casos, aunque a veces es muy leve y solo se puede demostrar con tinción para CD20 que marca la infiltración intrasinusoidal e intersticial. Un rasgo útil es la presencia

de dendríticas marcados con CD23 en los nódulos linfoides, reflejando el reemplazamiento folicular como en el bazo.

**Pieza de esplenectomía:** Patrón micronodular, centrado en la pulpa blanca, con un componente interior de linfocitos pequeños que reemplaza el centro germinal con borramiento del manto normal. Este componente está rodeado por una zona periférica de células de pequeño y mediano tamaño con citoplasmas amplios y con blastos salpicados (diferenciación marginal). Se observa infiltración en la pulpa roja en una intensidad variable y con una composición celular semejante a la de la pulpa blanca. Se pueden observar histiocitos epitelioides. Como en otros linfomas de células pequeñas se puede observar diferenciación plasmacítica, con presencia de nidos de células plasmáticas en los centros.

**Ganglio linfático:** Es muy infrecuente demostrar afectación de ganglios periféricos por LEZM. Sin embargo, sí se suelen afectar los ganglios del hilio esplénico. En esta muestra el tumor presenta un patrón nodular, con un crecimiento del linfoma alrededor de los centros, reemplazándolos y formado por una composición citológica semejante a la del bazo, pero la diferenciación marginal no es tan evidente.

El diagnóstico se realiza en la mayoría de los casos en sangre y/o médula porque está disminuyendo la realización de esplenectomía con fines terapéuticas al utilizarse otras opciones, como rituximab con o sin monoterapia asociada.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

Es importante tener en cuenta que este tumor no tiene un marcador propio, y que rasgos morfológicos descritos en médula, sangre y bazo pueden manifestarse en otros linfomas de células pequeñas cuando infiltran estas localizaciones.

El diagnóstico diferencial se plantea con otros linfomas de células pequeñas:

- Linfoma de células del manto: la expresión de ciclina D1 excluye el diagnóstico de LEZM.
- Linfoma folicular: la coexpresión de folículos de bcl2 y bcl6 favorece el diagnóstico de linfoma folicular. El mayor problema es de LEZM con linfoma folicular BCL2 negativo. En estos casos, el patrón de tinción con Mib1 (anular o diana) en LEZM, frente a localización en centros en LF, y la expresión en esos centros de Bcl6 ayuda al diagnóstico.
- Linfoma linfoplasmacítico. Este diagnóstico se establece principalmente en los casos de LEZM con diferenciación plasmacítica. En estos casos el estudio de la mutación MYD88L265P puede ayudar.
- LLC-B. Este diagnóstico se establece en la mayoría de las ocasiones en sangre periférica y médula ósea. La coexpresión de CD5 y CD23 favorece el diagnóstico de LLC. La expresión de LEF1 es otro marcador útil para el diagnóstico de LLC-B frente a LEZM.
- El diagnóstico diferencial con otros linfomas de la zona marginal requiere correlación con los datos clínicos y localización del linfoma.

Es importante diferenciar el LEZM de las poblaciones monoclonales de linfocitos B, con un fenotipo tipo marginal, como las asociadas a hepatitis virus C, procesos autoinmunes como artritis reumatoide, lupus, etc. Para establecer un diagnóstico preciso es necesario una correlación clínico-patológica.

## PANELES DE IHQ

**Panel de primera línea CMF:** CD19, CD20/CD22, CD200, CD11c, CD25, CD123, CD103, κ, λ.

**Panel de primera línea IHQ:** CD20, CD3, bcl2, bcl6, SOX11, ciclina D1, CD23, Ki67.

El patrón de tinción con bcl2 y MIB1 ayudan al diagnóstico de este tumor. Bcl2 permite identificar reemplazamiento de centros bcl2 negativos por células tumorales bcl2+. Con Ki67 se puede observar

el patrón en diana, con tinción en el centro de las células del centro residuales y en la zona periférica (marginal), o bien patrón anular, destacando las células proliferantes en la zona marginal, cuando se ha producido el reemplazamiento total del centro por el tumor.

No existe un marcador propio de este tumor, por lo que es necesario descartar otros linfomas de células pequeñas con marcadores relativamente específicos como SOX11 y ciclina D1 para excluir linfoma del manto, y bcl6 para excluir linfoma folicular.

**Panel de segunda línea:** Anexina 1, IgD, IGG, LEF1, DBA44, T-BET.

## CITOGENÉTICA/MOLECULAR

El análisis del gen de las inmunoglobulinas (Ig) ha mostrado el uso selectivo de la familia IGVH1-2 aproximadamente en un tercio de los LEZM.

Los estudios citogenéticos revelan anomalías en el 70-80 % de los casos, con cariotipos complejos en un 50 %. La del 7q es la alteración citogenética más frecuente (30-40 %), siendo excepcional en otros linfomas de células pequeñas. Otras alteraciones encontradas son las trisomías totales o parciales de los cromosomas 3/3q(25 %) y 12q(13 %), deleciones del 6q, anomalías de 1q, 8q, 9p, 14q, 18q, y deleciones del 17p, ésta última junto con la presencia de cariotipos complejos parecen asociarse a un pronóstico más desfavorable. Estudios de secuenciación masiva han mostrado que los genes más frecuentemente mutados son NOTCH2 en 10-25 % y KLF2 en 12-44 %.

La ausencia de la t(11;14)(q13;q32) y la t (14;18)(q32;q21) ayudarán a excluir linfoma del manto y linfoma folicular, especialmente cuando solo se disponga de médula ósea y/o sangre periférica. Mutaciones del gen MYD88 son poco frecuentes, hasta 19 %, y las mutaciones de BRAF son excepcionales en este tumor; su estudio puede ayudar al diagnóstico diferencial con linfoma linfoplasmacítico y leucemia de células peludas LPL, respectivamente.

## RECOMENDACIONES

1. El diagnóstico se puede establecer en el estudio de muestra de sangre periférica y médula ósea y/o pieza de esplenectomía. Grado C. Evidencia nivel IV.
2. No es imprescindible el estudio del bazo para establecer el diagnóstico. Grado C. Evidencia nivel IV.
3. El diagnóstico diferencial con otros linfomas de células pequeñas más relevante clínicamente es con el linfoma del manto, por lo que es necesario excluir este diagnóstico mediante la tinción con SOX11, ciclina D1 y/o estudio de reordenamiento de *CCND1* mediante FISH. Grado C. Evidencia nivel IV.
4. La presencia de linfocitos vellosos no es exclusiva de este tumor, otros linfomas de células pequeñas pueden presentar linfocitos vellosos, como linfoma manto, folicular, linfoplasmacítico, o linfoma difuso de la pulpa roja. Grado C. Evidencia nivel IV.
5. La infiltración intrasinusoidal no es exclusiva de este tumor: se puede ver en otros linfomas. Es necesario integrar el resto de datos morfológicos y fenotípicos para hacer un diagnóstico. Grado C. Evidencia nivel IV.
6. La diferenciación marginal observada en el bazo no es exclusiva de LEZM, otros linfomas de células pequeñas cuando infiltran el bazo pueden manifestar este aspecto morfológico, por lo que hay que tener en cuenta otros datos morfológicos y fenotípicos. Grado C. Evidencia nivel IV.

7. En las biopsias de médula ósea es necesario realizar CD20 para detectar la infiltración, a veces no visible con la HE. Grado C. Evidencia nivel IV.

8. El estudio citogenético no es necesario, pero es recomendable dado que puede ser de ayuda en el diagnóstico diferencial. Grado C. Evidencia nivel IV.

**Bibliografía**


1. Arcaini L, Rossi D, Paulli M. (2016) «Splenic marginal zone lymphoma: from genetics to management» (2016) Blood 127(17):2072-81.

2. Parry M, Rose-Zerilli MJ, Ljungström V, Gibson J, Wang J, Walewska R, Parker H, Parker A, Davis Z, Gardiner A, McIver-Brown N, Kalpadakis C, Xochelli A, Anagnostopoulos A, Fazi C, Gonzalez de Castro D, Dearden C, Pratt G, Rosenquist R, Ashton-Key M, Forconi F, Collins A, Ghia P, Matutes E, Pangalis G, Stamatopoulos K, Oscier D, Strefford JC.(2015). «Genetics and Prognostication in Splenic Marginal Zone Lymphoma: Revelations from Deep Sequencing». Clin Cancer Res. 21(18):4174-83.

3. Mollejo M, Menárguez J, Guisado-Vasco P, Bento L, Algara P, Montes-Moreno S, Rodriguez-Pinilla MS, Cruz MA, Casado F, Montalbán C, Piris MA. Hepatitis C virus-related lymphoproliferative disorders encompass a broader clinical and morphological spectrum than previously recognized: a clinicopathological study. Mod Pathol. 2014 Feb;27(2):281-93

4. Montalban C, Abraira V, Arcaini L, Domingo-Domenech E, Guisado-Vasco P, Iannitto E, Mollejo M, Matutes E, Ferreri AJ, Salar A, Rattotti S, Carpaneto A, Perez R, Bello JL, Hernandez M, Caballero D, Carbonell F, Piris MA; Splenic Marginal Zone Lymphoma Study Group (SMZLSG). Simplification of risk stratification for splenic marginal zone lymphoma: a point-based score for practical use. Leuk Lymphoma. 2014 Apr;55(4):929-31.

5. Wotherspoon AC. Extranodal and splenic small B-cell lymphoma. Mod Pathol. 2013 Jan;26 Suppl 1:S29-41. Review.

6. Piris MA, Arribas A, Mollejo M. Marginal zone lymphoma. Semin Diagn Pathol. 2011 May;28(2):135-45. Review.

7. Manuela Mollejo, María S. Rodríguez-Pinilla, M, Santiago Montes-Moreno, Patrocinio Algara, Ahmet Dogan, Juan C. Cigudosa, Rocío Juarez, Teresa Flores, Jerónimo Forteza, Alberto Arribas, Miguel A. Piris. Splenic Follicular Lymphoma. Clinicopathologic Characteristics of a Series of 32 Cases. Am J Surg Pathol. 2009 May;33(5):730-8.

8. Salido M, Baro C, Oscier D, Stamatopoulos K, Dierlamm J, Matutes E et al. Cytogenetic aberrations and their prognostic value in a series of 330 splenic marginal lymphomas: a multicenter study of the Splenic B-cell Lymphoma Group. Blood, 2010; 116; 1479-1488

9. Matutes E, Oscier D, Montalban C, et al. Splenic marginal zone lymphoma proposals for a revision of diagnostic, staging and therapeutic criteria. Leukemia, 2008;22;487-495

10. Camacho FI, Mollejo M, Mateo MS, Algara P, Navas C, Hernandez JM, Santoja C, Sole F, Sanchez-Beato M, Piris MA. Progression to large B-cell lymphoma in splenic marginal zone lymphoma: a description of a series of 12 cases. Am J Surg Pathol 2001 Oct;25(10):1268-76.

11. Piris MA, Mollejo M, Campo E, Menárguez J, Flores T, Isaacson PG. A marginal zone pattern may be found in different varieties of non-Hodgkin's lymphoma: the morphology and immunohistology of splenic involvement by B-cell lymphoma simulating splenic marginal zone lymphoma. Histopathology. 1998 Sep;33(3):230-9.

12. Mollejo M, Lloret E, Menárguez J, Piris MA, Isaacson PG. Lymph node involvement by splenic marginal zone lymphoma: morphological and immunohistochemical features. Am J Surg Pathol. 1997 Jul;21(7):772-80.

13. Mollejo M, Menárguez J, Lloret E, Sánchez A, Campo E, Algara P, Cristóbal E, Sánchez E, Piris MA. Splenic marginal zone lymphoma: a distinctive type of low grade B-cell lymphoma. A clinicopathological study of 13 cases. Am J Surg Pathol. 1995 Oct;19(10):1146-57.

14. Bonfiglio F, Bruscaggin A, Guidetti F, Terzi di Bergamo L, Faderl M, Spina V, Condoluci A, Bonomini L, Forestieri G, Koch R, Piffaretti D, Pini K, Pirosa MC, Cittone MG, Arribas A, Lucioni M, Ghilardi G, Wu W, Arcaini L, Baptista MJ, Bastidas G, Bea S, Boldorini R, Broccoli A, Buehler MM, Canzonieri V, CascioneL, Ceriani L, Cogliatti S, Corradini P, Derenzini E, Devizzi L, Dietrich S, Elia AR, Facchetti F, Gaidano G, Garcia JF, Gerber B, Ghia P, Gomes da Silva MGritti G, Guidetti A, Hitz F, Inghirami G, Ladetto M, Lopez-Guillermo A, Lucchini E, Maiorana A, Marasca R, Matutes E, Meignin V, Merli M, Moccia A, Mollejo M, Montalban C, Novak U, Oscier DG, Passamonti F, Piazza F, Pizzolitto S, Rambaldi A, Sabattini E, Salles G, Santambrogio E, Scarfò L, Stathis A, Stüssi G, Geyer JT, Tapia G, Tarella C, Thieblemont C, Tousseyn T, Tucci A, Vanini G, Visco C, Vitolo U, Walewska R, Zaja F, Zenz T, Zinzani PL, Khiabanian H, Calcinotto A, Bertoni F, Bhagat G, Campo E, De Leval L, Dirnhofer S, Pileri SA, Piris MA, Traverse-Glehen A, Tzankov A, Paulli M, Ponzoni M, Mazzucchelli L, Cavalli F, Zucca E, Rossi D. Genetic and phenotypic attributes of splenic marginal zone lymphoma. Blood. 2022;139(5):732-747.

15. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leukemia. 2022;36(7):1720-1748.

16. Lim MS, Arcaini L Naresh KN et al. Splenic marginal zone lymphoma. WHO Classification of tumours. 5h Edition. IARC 2024

17. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. Blood. 2022;140(11):1229-1253.

18. Laurent C, Cook JR, Yoshino T et al. Follicular and marginal zone lymphoma: how many diseases? Virchow Archiv 2023; 482:149-162

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfomas B no Hodgkin: Linfomas B indolentes: Linfomas de la zona marginal: Linfoma de la zona marginal tipo MALT

**Manuela Mollejo Villanueva**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario de Toledo, Toledo*

## DEFINICIÓN Y FRECUENCIA DE LA ENTIDAD.

El linfoma de la zona marginal extraganglionar de tejido linfoide asociado a mucosas (MALT) se caracteriza por una proliferación linfoide con un patrón de crecimiento perifolicular con colonización de los centros germinales y extensión perifolicular. Está formada por linfocitos pequeños, células B monocitoides, plasmáticas en una proporción variable y aislados blastos. En mucosas, los linfocitos infiltran el epitelio y forman las llamadas lesiones linfoepiteliales. Los linfomas MALT representan un 8 % de los linfomas B y un 50 % de los linfomas primarios gástricos.

En muchos casos de linfomas de tipo MALT existen lesiones precursoras. Hay una historia de infiltrado inflamatorio crónico, debido a infección, proceso autoinmune o un estímulo desconocido que produce acúmulo de tejido linfoide en una localización extraganglionar, que posteriormente da lugar al linfoma MALT. Entre estas lesiones precursoras se encuentran gastritis por helicobacter pilory, tiroiditis de Hashimoto o síndrome de Sjögren.

El linfoma primario cutáneo de la zona marginal se ha separado en la última edición de la OMS como una entidad clinicopatológica, y en la clasificación de la International Consensus Classification (ICC) se denominan desorden linfoproliferativo cutáneo tipo marginal.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

Biopsia de la localización extraganglionar afecta. Localizaciones más frecuentes: tracto gastrointestinal (gástrica), pulmón, cabeza y cuello, salivar, ocular, piel.

Biopsia de médula ósea: No está indicada en la mayoría de los linfomas MALT, porque un alto porcentaje de casos se presentan en estadios localizados. Cuando hay infiltración, el patrón de infiltración puede ser intersticial, nodular o difuso.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL (DD) Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

El diagnóstico diferencial se establece por un lado con procesos reactivos y por otro, con otros linfomas B de células pequeñas. El linfoma B de células del manto tiene un tropismo particular por el tracto gastrointestinal y se debe considerar en el diagnóstico diferencial, particularmente si no se observan lesiones linfoepiteliales. También el linfoma B folicular y sus variantes pueden plantear un diagnóstico diferencial en territorios extraganglionares.

Los datos favorables al diagnóstico de linfoma frente al de proceso reactivo son el patrón infiltrante del componente linfoide, anomalías fenotípicas/citogenéticas, evidencia indirecta de monoclonalidad por restricción de cadenas ligeras y/o estudio molecular de reordenamiento monoclonal de los genes de Ig.

No hay un marcador específico de este linfoma, por lo que es necesario realizar inmunohistoquímica para descartar otros linfomas de células pequeñas.

Hay que tener en cuenta la hiperplasia marginal atípica con restricción de cadenas ligeras, descrita en la infancia, que plantea diagnóstico diferencial con linfoma de la zona marginal.

## PANELES DE IHQ

**Panel de primera línea:** CD20, CD3, ciclina D1, bcl2, bcl6, ki67, κ, λ

**Panel de segunda línea:** SOX11, CD38, IgD, CD23, IRTA1, MNDA, T-bet, LEF1

## CITOGENÉTICA/MOLECULAR

Se han descrito translocaciones asociadas a linfomas MALT, incluyendo la t(11;18)(q21;q21) que implica a BIRC3-*MALT1* y las t(1;14) (p22;q32), t(14;18)(q32;q21 y la t(3;14)(p14.1;q32), que desregulan los factores de transcripción BCL10, MALT1 Y FOXP1 respectivamente. Estas alteraciones tienen cierta predisposición a producirse en determinadas localizaciones:

- La t(11;18)(q21;q21)(BIRC3-*MALT1*) (15-40 %) detectada especialmente en MALT gástricos (10-40 %), se asocia a una pobre respuesta al tratamiento antibiótico erradicador del H pilory (<5 %) y por ello en estos casos debe considerarse la adición de tratamientos alternativos. Esta anomalía también se detecta en MALT pulmonares.
- La t(14;18)(q32;q21)(*IGH-MALT1*)(20 %) se detecta principalmente en linfomas anejos oculares/órbita y glándula salival.
- La t(3;14)(p14.1;q32)(*IGH-FOXP1*) (<5 %) asociado fundamentalmente a MALT de tiroides, anejos oculares/órbita y piel.
- La t(1;14)(p22;q32)(IGH-BCL10) (<5 %), detectado fundamentalmente en los MALT gástricos y pulmonares.
- La t(x;14)(p11;q32)(IGH-GPR34) se detecta en 16 % de linfomas en glándula salival.

Se han descrito deleciones/mutaciones de TNFAIP3 (A20) en el 19 %, 8 % y 11 % de los linfomas MALT ocular, salival y tiroides respectivamente. Otras mutaciones descritas son de GPR34 en glándulas salivares (19 %), FAS en piel (63 %), y CD274, TNFRSF14 y TET2 en tiroides (68 %, 53 % y 86 % respectivamente).

Las trisomías del cromosoma 3 y 18 y las deleciones del 6q, también son frecuentes en este tipo de linfomas, independientemente de la localización anatómica.

**RECOMENDACIONES**

1. Las lesiones linfoepiteliales no son específicas de los MALT, se pueden observar en otros linfomas infiltrando epitelios y en condiciones reactivas. Grado C. Evidencia nivel IV.

2. Hay que recordar que otros linfomas B de célula pequeña pueden presentarse clínicamente infiltrando localizaciones extraganglionares. Grado C. Evidencia nivel IV.

3. Como otros linfomas B de célula pequeña, puede presentar diferenciación plasmacítica, particularmente después de la terapia. Grado C. Evidencia nivel IV.

4. Se pueden observar células grandes salpicadas en la zona marginal, y eso no es sinónimo de linfoma B difuso de células grandes. Solo cuando se observen zonas difusas formadas por células grandes, el diagnóstico será linfoma B difuso de células grandes con un componente de linfoma MALT. Grado C. Evidencia nivel IV.

5. Por la ausencia de marcadores específicos, y por la dificultad de realizar el diagnóstico diferencial con procesos reactivos/precursores, es necesario hacer una correlación clínico-patológica para establecer el diagnóstico definitivo. Grado C. Evidencia nivel IV.

6. En casos en los que no haya evidencia indirecta de monoclonalidad mediante estudio IHQ con cadenas ligeras se recomienda realizar estudio de clonalidad de IG para demostrar objetivamente monoclonalidad. Grado C. Evidencia nivel IV.

7. Los estudios citogenéticos pueden ser de ayuda en el diagnóstico diferencial. En los linfomas MALT gástrico, se recomienda realizar el estudio de a t(11;18)(q21;q21)(API2-MALT1), ya que esta traslocación predice una pobre respuesta al tratamiento antibiótico. Grado B. Evidencia nivel III.

**Bibliografía**

1. Zucca E, Bertoni F. (2016) «The spectrum of MALT lymphoma at different sites: biological and therapeutic relevance». Blood 127(17):2082-92.

2. Thieblemont, C., F. Bertoni, C. Copie-Bergman, A. J. Ferreri and M. Ponzoni (2014). «Chronic inflammation and extra-nodal marginal-zone lymphomas of MALT-type.» Semin Cancer Biol 24: 33-42.

3. Suarez, F., O. Lortholary, O. Hermine and M. Lecuit (2006). «Infection-associated lymphomas derived from marginal zone B cells: a model of antigen-driven lymphoproliferation.» Blood 107(8): 3034-304.

4. Ferreri, A. J., S. Govi and M. Ponzoni (2013). «Marginal zone lymphomas and infectious agents.» Semin Cancer Biol 23(6): 431-440.

5. Zucca E, Arcaini L, Buske C, Johnson PW, Ponzoni M, Raderer M, Ricardi U, Salar A, Stamatopoulos K, Thieblemont C, Wotherspoon A, Ladetto M. (2020). ESMO Guidelines Committee. Electronic address: clinicalguidelines@esmo.org. Marginal zone lymphomas: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 31(1):17-29.

6. Cheuk W, Cheng CL, Cooper WA et al. (2024). Extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. WHO Classification of tumours. 5h Edition. IARC 2024.

7. Geyer J, Willemze R. Primary cutaneous marginal zone lymphoma. (2024) WHO Classification of haematolymphoid tumours. 5h Edition. IARC 2024.

8. Goodlad J, Cerroni L, Wwerdlow S. Recent advances in cutaneous lymphoma-implications for current and future classifications. Virchows Archiv 2023; 482;: 281-298.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfomas B no Hodgkin: Linfomas B indolentes: Linfomas de la zona marginal: Linfoma de la zona marginal tipo ganglionar

**Manuela Mollejo Villanueva**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario de Toledo, Toledo*

## DEFINICIÓN Y FRECUENCIA DE LA ENTIDAD

El linfoma de la zona marginal tipo ganglionar (NMZL) es una neoplasia de células B que se asemeja morfológicamente a los ganglios infiltrados por linfoma de la zona marginal tipo MALT o esplénico pero sin afectación de una localización extraganglionar ni del bazo.

Es muy poco frecuente, alrededor del 1,5-1,8 % de las neoplasias linfoides. Se han descrito casos asociados al virus de la hepatitis C.

Existe un subtipo clínico-patológico, el linfoma de la zona marginal ganglionar pediátrico. Se suele presentar en varones, en un estadio clínico inicial y en una sola localización ganglionar. Tienen un curso excelente con baja proporción de recidivas con tratamiento conservador. En la ICC se sugiere un solapamiento con linfoma folicular tipo pediátrico.

## TIPO DE MUESTRA PARA DIAGNÓSTICO

La muestra ideal para el diagnóstico es la biopsia escisional del ganglio linfático afectado. Es muy rara la afectación de médula ósea y sangre periférica.

**Biopsia ganglio:** Muestra una proliferación linfoide con un patrón perifolicular, colonizando centros germinales y con crecimiento en las áreas interfoliculares. La composición citológica es semejante a los otros linfomas de la zona marginal: linfocitos pequeños, células plasmáticas, linfocitos con diferenciación marginal y aislados blastos. La tinción para células dendríticas destaca el patrón nodular con centros residuales.

## TIPO DE ESTUDIOS HISTOPATOLÓGICOS REQUERIDOS PARA LA ESTADIFICACIÓN

**Biopsia-cilindro de médula ósea:** Es el método de elección para la estadificación de todos los casos de LZMG. El examen morfológico del aspirado no es suficiente para el diagnóstico en estos casos y se

requiere una biopsia cilindro y estudios inmunofenotípicos y de citogenética/FISH (estos en caso de que se demuestre infiltración por citometría de flujo-morfología)

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

El diagnóstico diferencial se plantea especialmente con el linfoma folicular, linfoma linfoplasmacítico y con la infiltración ganglionar por un linfoma de la zona marginal tipo MALT o esplénico.

Por otro lado, se plantea diagnóstico diferencial con hiperplasias foliculares reactivas.

## PANELES DE IHQ

No existe un marcador propio de este linfoma: para establecer el diagnóstico hay que excluir marcadores de otros linfomas y utilizar los que destaquen el patrón arquitectural.

**Panel de primera línea:** CD20, CD3, bcl2, bcl6, ciclina D1, CD23, MIB1.

**Panel de segunda línea:** SOX11, IgD, κ, λ, MNDA, IRTA1.

## CITOGENÉTICA/MOLECULAR

No existe marcador específico de este tumor. No son frecuentes las traslocaciones descritas en los linfomas marginales MALT ni la del7q31-32 del linfoma esplénico de la zona marginal. Entre las anomalías más frecuentemente detectadas se encuentran las trisomías de los cromosomas 3, 12 y 18.

En ocasiones puede ser necesario la demostración de clonalidad por PCR para confirmar el diagnóstico de linfoma de la zona marginal y diferenciarlo de proceso reactivo.

Estudios de secuenciación masiva han identificado mutaciones del gen PTPRD (14,3 %), como un nuevo marcador de este tipo de linfoma, y la presencia de mutaciones somáticas de genes descritos en LEZM como NOTCH2 (20 %) y de KLF2 (14,3 %).

## RECOMENDACIONES

1. La biopsia escisional del ganglio es necesaria para el diagnóstico. Grado C. Evidencia nivel IV.
2. Por la ausencia de marcadores propios, hay que incluir en el panel de inmunohistoquímica SOX11, ciclina D1 y bcl6 para excluir linfoma del manto y linfoma B folicular. Grado C. Evidencia nivel IV.
3. La presencia de folículos es constante, y la tinción para dendríticas (CD21/CD23) destacan el patrón nodular del tumor con la existencia de centros germinales reemplazados por el tumor. Grado C. Evidencia nivel IV.
4. Correlacionar con la historia clínica para descartar infiltración de órgano extraganglionar o esplénica. Grado C. Evidencia nivel IV.
5. Diferenciación marginal se puede observar en linfomas foliculares. Grado C. Evidencia nivel IV.
6. Cuando presenta diferenciación plasmacítica y plantea diagnóstico diferencial con linfoma linfoplasmacítico, se puede realizar un diagnóstico de linfoma B de células pequeñas con diferenciación plasmacítica y proponer las diferentes opciones. Grado C. Evidencia nivel IV.

7. El número de células grandes que se ven en los LZM ganglionares suele ser mayor que en los otros tipos, MALT y esplénico. Sin embargo, para considerarlo un linfoma B difuso de células grandes tiene que observarse un patrón difuso formado por masas o nidos de células grandes sin el patrón nodular del LZM. Grado C. Evidencia nivel IV.

**Bibliografía**


1. Spina V, Khiabanian H, Messina M, Monti S, Cascione L, Bruscaggin A, Spaccarotella E, Holmes AB, Arcaini L, Lucioni M, Tabbò F, Zairis S, Diop F,Cerri M, Chiaretti S, Marasca R, Ponzoni M, Deaglio S, Ramponi A, Tiacci E,Pasqualucci L, Paulli M, Falini B, Inghirami G, Bertoni F, Foà R, Rabadan R,Gaidano G, Rossi D. (2016) «The genetics of nodal marginal zone lymphoma». Blood 128(10):1362-73

2. van den Brand M, van der Velden WJ, Diets IJ, Ector GI, de Haan AF, Stevens WB, Hebeda KM, Groenen PJ, van Krieken HJ. (2016) «Clinical features of patients with nodal marginal zone lymphoma compared to follicular lymphoma: similar presentation, but differences in prognostic factors and rate of transformation». Leuk Lymphoma 57(7):1649-56

3. van den Brand M, van Krieken JH. Recognizing nodal marginal zone lymphoma: recent advances and pitfalls. A systematic review. Haematologica. 2013 Jul;98(7):1003-13.

4. Angelopoulou MK, Kalpadakis C, Pangalis GA, Kyrtsonis MC, Vassilakopoulos TP. Nodal marginal zone lymphoma. Leuk Lymphoma. 2013 Nov 12.

5. Dreyling M, Thieblemont C, Gallamini A, et al. ESMO Consensus conferences: guidelines on malignant lymphoma. part 2: marginal zone lymphoma, mantle cell lymphoma, peripheral T-cell lymphoma. Ann Oncol, 2013; 24: 857–87

6. Traverse-Glehen A, Bertoni F, Thieblemont C, Zucca E, Coiffier B, Berger F, Salles G. Nodal marginal zone B-cell lymphoma: a diagnostic and therapeutic dilemma. Oncology (Williston Park). 2012 Jan;26(1):92-9, 103-4. Review

7. Kanellis G, Roncador G, Arribas A, Mollejo M, Montes-Moreno S, Maestre L, Campos-Martin Y, Ríos Gonzalez JL, Martinez-Torrecuadrada JL, Sanchez-Verde L, Pajares R, Cigudosa JC, Martin MC, Piris MA Identification of MNDA as a new marker for nodal marginal zone lymphoma. Leukemia. 2009 23(10):1847-57. PMID: 19474799

8. Mollejo M, Camacho FI, Algara P, Ruiz-Ballesteros E, García JF, Piris MA. Nodal and splenic marginal zone B cell lymphomas. Hematol Oncol. 2005 Sep-Dec;23(3-4):108-18. Review.

9. FI Camacho, P Algara, M Mollejo, JF García, C Montalbán, N Martínez, M Sánchez-Beato, MA Piris. Nodal marginal zone lymphoma: a heterogeneous tumor. Am J Surg Pathol 2003; 27: 762-771.

10. Natkunam Y, Attarbaschi A, Di Napoli A et al. Nodal marginal zone lymphoma. WHO Classification of tumours. 5h Edition. IARC 2024.

11. Di Napoli A, Attarbaschi A, Oschiles I. Paediatric nodal marginal zone lymphoma. WHO Classification of tumours. 5h Edition. IARC 2024.

12. Laurent C, Cook JR, Yoshino T et al. Follicular and marginal zone lymphoma: how many diseases? Virchow Archiv 2023; 482:149-162

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfomas B no Hodgkin: Linfomas B indolentes: Linfoma linfoplasmacítico

**Santiago Montes Moreno**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IDIVAL, Santander*

## DEFINICIÓN

El linfoma linfoplasmacítico (LLP) es una neoplasia de células B maduras formada por linfocitos pequeños, plasmáticas y linfocitos plasmocitoides que usualmente infiltra la médula ósea y ocasionalmente el bazo y los ganglios linfáticos. Es frecuente la presencia de paraproteina, generalmente IgM. Macroglobulinemia de Waldenstrom (MW) se define como un LLP con infiltración de médula ósea y producción de componente monoclonal IgM en la sangre. Hay casos asociados al virus de la hepatitis C y predisposición familiar hasta en el 20 % de los casos con LLP/MW.

Se distinguen al menos dos formas clínicas, el linfoma B linfoplasmacitico de tipo IgM/MW y los casos no-IgM/MW. Los casos no_IgM/MW suponen cerca del 5 % del total y se incluyen casos de tipo IgG, IgA, no secretores, y aquellos de tipo IgM sin infiltración de la medula ósea.

Desde el punto de vista genético se distinguen los casos MYD88L265P mutados de los casos sin mutación de MYD88L265P.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

El diagnóstico se establece en biopsia de médula ósea. Ocasionalmente se diagnostica en territorios extramedulares, principalmente ganglio linfático y bazo. También se puede demostrar infitlracion de otros territorios extraganglionares como la piel, el SNC o el liquido pleural.

**Sangre periférica:** Frecuentemente muestra rouleaux. Se observan linfocitos pequeños, linfoplasmocitoides y células plasmáticas.

**Biopsia médula ósea:** Muestra un infiltrado mixto, paratrabecular e intersticial, difuso y/o nodular por linfocitos pequeños, células linfoplasmocitoides y plasmáticas. Se pueden observar cuerpos de Russell o cuerpos de Dutcher (inclusiones nucleares). Se pueden observar aislados blastos, pero no centros de proliferación. Se ven frecuentes mastocitos e histiocitos con hemosiderina.

Para establecer el diagnóstico de LPL/MW es obligado el estudio de la médula ósea (aspirado y biopsia) y la demostración de infiltrados linfoides significativos, que suelen suponer >10 % de la celularidad por las técnicas de aspirado/CMF y reflejar agregados linfoides en la biopsia ósea.

**Ganglio linfático:** Proliferación linfoide con un patrón vagamente nodular o difuso, con centros germinales residuales, y formada por el mismo tipo celular que en médula ósea y sangre periférica. No es raro observar histiocitos epitelioides.

**Bazo**: Es muy raro que se realice el diagnóstico en el bazo. Presenta un infiltrado con las mismas características que en el resto de los órganos, y localizado preferentemente en la pulpa roja.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

El diagnóstico diferencial del linfoma linfoplasmacítico incluye otros linfomas B de célula pequeña con diferenciación plasmacítica. El diagnóstico que más dificultad plantea es el linfoma de la zona marginal.

Por otro lado, el diagnóstico diferencial hay que establecerlo con las proliferaciones linfoplasmacíticas monoclonales asociadas/ o no al virus de la hepatitis C.

En la biopsia de médula ósea se debe establecer diagnóstico diferencial con gammapatia monoclonal de significado incierto de tipo IgM y con mieloma multiple, principalmente. La presencia de un infiltrado significativo de células linfoides y/o linfoplasmocitoides apoyaría el diagnóstico de linfoma linfoplasmacitico frente al de GMSI de tipo IgM.La demostración de la mutacion de MYD88L265P favorecería este diagnostico frente al de otros linfomas B de célula pequeñas y mieloma múltiple. Por el contrario la expresión de *CCND1* o la presencia de traslocaciones típicas de mieloma favorecería esta entidad.

El diagnostico diferencial con LZM esplénico en la biopsia de medula ósea es complejo. La presencia de un patron intrasinusoidal, citomorfologia típica, expresión de marcadores propios de LZM como DBA44, Tbet y ausencia de la mutación MYD88L265P favorecería el diagnostico de LZM frente al de LLP/EW.

## PANELES DE INMUNOHISTOQUIMICA (IHQ), HIBRIDACION IN SITU CROMOGENICA (HIS-C) Y ESTUDIO MOLECULAR.

**Panel de primera línea CMF:** CD20, CD22, CD138, CD23, CD5, CD25, CD103, sIgMIg, CD10.

**Panel de primera línea IHQ**: CD20, CD3, CD138, CD38, κ, λ, ciclina D1, IgM. MUM1.

**Panel de segunda línea IHQ**: IgG, IgA.

**Paneles de segunda línea**: estudio molecular MYD-88L265P. En casos seleccionados mutaciones de CXCR4.

## CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

La mutación L265P del gen MYD88 es muy frecuente en casos de LPL de tipo IgM (>95 %) y menos frecuente en los casos de LLP no-IgM. También se puede detectar en los casos de GMSI-IgM con menor sensibilidad. Esta mutación es de gran utilidad para el diagnóstico diferencial, ya que no está presente en otras neoplasias linfoides, salvo en un 15-20 % de los linfomas difusos de célula grande (especialmente de tipo no centro germinal en localizaciones extraganglionares), el 20 % de los linfomas B de la zona marginal esplénico y en apenas un 2 % de las leucemias linfoides crónicas. Las mutaciones del gen CXCR4 se detectan en un 25-30 % de los casos de LPL de tipo IgM/MW.

En ocasiones puede ser necesario realizar FISH para t(11;14) y t (14;18) para excluir linfoma del manto y linfoma folicular respectivamente, que nunca aparecen en el LPL. La deleción de 6q es frecuente (aprox. 40 %).

**RECOMENDACIONES**

1. La detección de la mutación MYD88/L265P se ha demostrado de utilidad en el diagnóstico diferencial de procesos linfoproliferativos B de bajo grado en muestras de MO y ganglio linfático de modo que su presencia apoya el diagnóstico de LLP. Grado B, nivel de evidencia III.

2. El diagnóstico de LLP de tipo IgM/MW requiere la identificación de un componente monoclonal IgM en suero, junto con la evidencia de infiltración medular significativa en la biopsia ósea. En las muestras de aspirado de MO se establece un punto de corte del 10 % de linfoplasmocitos para el diagnostico de LLP y/o agregados linfoides o linfoplasmacitoides en la biopsia-cilindro de MO. Grado C. Evidencia nivel IV.

**Bibliografía**


1. Castillo JJ, Garcia-Sanz R, Hatjiharissi E, Kyle RA, Leleu X, McMaster M, Merlini G, Minnema MC, Morra E, Owen RG, Poulain S, Stone MJ, Tam C, Varettoni M, Dimopoulos MA, Treon SP, Kastritis E.(2016) «Recommendations for the diagnosis and initial evaluation of patients with Waldenström Macroglobulinaemia: A Task Force From the 8th International Workshop on Waldenström Macroglobulinaemia». Br J Haematol. 175(1):77-86.

2. Bassarova A, Trøen G, Spetalen S, Micci F, Tierens A, Delabie J. (2015). «Lymphoplasmacytic lymphoma and marginal zone lymphoma in the bone marrow: paratrabecular involvement as an important distinguishing feature». Am J Clin Pathol. 143(6):797-806.

3. Treon SP, Cao Y, Xu L, Yang G, Liu X, Hunter ZR.(2014) «Somatic mutations in MYD88 and CXCR4 are determinants of clinical presentation and overall survival in Waldenstrom macroglobulinemia». Blood. 123(18):2791-6.

4. Mollejo M, Menárguez J, Guisado-Vasco P, Bento L, Algara P, Montes-Moreno S, Rodríguez-Pinilla MS, Cruz MA, Casado F, Montalbán C, Piris MA. (2014) «Hepatitis C virus-related lymphoproliferative disorders encompass a broader clinical and morphological spectrum tan previously recognized: a clinicopathological study». Modern Pathol, 27(2):281-93.

5. Jiménez C; Sebastián E; Del Carmen Chillón M; Giraldo P; Mariano Hernández J; Escalante F; González-López TJ; Aguilera C; de Coca AG; Murillo I; Alcoceba M; Balanzategui A; Eugenia Sarasquete M; Corral R; Marín LA; Paiva B; Ocio EM; Gutiérrez NC; González M; San Miguel JF; García-Sanz R.(2013). MYD88 L265P is a marker highly characteristic of, but not restricted to, Waldenström's macroglobulinemia. Leukemia. 27:1722-8.

6. Gachard, N., Parrens M, Soubeyran, B,Petit B, Marfak A, Rizzo D, Devesa M, Delage-Corre M, Coste V, Laforet MP, Mascarel A, Merlio JP, Bouabdhalla K, Milpied N, Soubeyral P, Schmitt A, Bordessoule D, Cogne M and Feuillard J (2013). «IGHV gene fatures and MYD88 L265P mutation separate the three marginal zone lymphoma entities and Waldenstrom macroglobulinemia/lymphoplasmacytic lymphomas». Leukemia 27(1):183-189.

7. Ondrejka S, Lin JJ, Warden DW, Durkin L, Cook JR, and Hsi ED (2013). «MYD88 L265P somatic mutation: its usefulness in the differential diagnosis of bone marrow involvement by B-cell lymphoproliferative disorders». Am J Clin Pathol 140 (3): 387-394.

8. Varettoni, M., L. Arcaini, S. Zibellini, E. Boveri, S. Rattotti, R. Riboni, A. Corso, E. Orlandi, M. Bonfichi, M. Gotti, C. Pascutto, S. Mangiacavalli, G. Croci, V. Fiaccadori, L. Morello, M. L. Guerrera, M. Paulli and M. Cazzola (2013). «Prevalence and clinical significance of the MYD88 (L265P)

somatic mutation in Waldenstrom's macroglobulinemia and related lymphoid neoplasms.» Blood 121(13): 2522-2528.

9. Treon SP, Xu L, Yang G, Zhou Y, Liu X, Cao Y, Sheehy P, Manning RJ, Patterson CJ, Tripsas C, Arcaini L, Pinkus GS, Rodig SJ, Sohani AR, Harris NL, Laramie JM,Skifter DA, Lincoln SE, Hunter ZR.(2012)«MYD88 L265P somatic mutation in Waldenström's macroglobulinemia». N Engl J Med. 367(9):826-33.

10. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leukemia. 2022;36(7):1720-1748.

11. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. Blood. 2022;140(11):1229-1253

12. Montes-Moreno S, Geddie WR, Kersten MJ, eta l. Lymphoplasmacytic lymphoma. WHO Classification of tumours. 5h Edition. IARC 2024.

13. Fend F, Dogan A, Cook JR. Plasma cell neoplasms and related entities-evolution in diagnosis and classification. Virchows Archi 2023; 482: 163-177

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfomas B no Hodgkin: Linfomas B indolentes: Otros procesos linfoproliferativos: Leucemia de células peludas/Tricoleucemia

**Manuela Mollejo Villanueva**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario de Toledo, Toledo*

## DEFINICIÓN Y FRECUENCIA DE LA ENTIDAD

La tricoleucemia o leucemia de células peludas (LCP) es un proceso linfoproliferativo caracterizado por esplenomegalia, infiltración de médula ósea y presencia en sangre periférica y aspirados de médula ósea de células con prolongaciones citoplasmáticas «peludas». Los pacientes presentan síntomas por pancitopenia, esplenomegalia o infecciones.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

El diagnóstico se establece normalmente en muestra de sangre periférica y médula ósea.

**Sangre periférica:** Se puede observar macrocitosis, pancitopenia, y monocitopenia. Las células peludas tienen núcleos de mediano tamaño y citoplasmas amplios con prolongaciones. No muestran nucléolo prominente.

**Biopsia médula ósea:** Típicamente los aspirados son secos por la fibrosis en la médula, siendo la biopsia de la médula una localización típica para el diagnóstico. El grado de infiltración es variable: desde un infiltrado intersticial con conservación de la arquitectura y del tejido adiposo hasta una infiltración difusa con borramiento de la arquitectura normal, por una proliferación de linfocitos de pequeño-mediano tamaño con citoplasmas amplios y claros. La infiltración de la médula por tricoleucemia no suele formar nódulos como ocurre en la infiltración de la médula por otros linfomas.

**Bazo:** Se observa una infiltración difusa en la pulpa roja por una proliferación de linfocitos con citoplasmas claros y núcleos ovoideos. La pulpa blanca suele ser atrófica. Es frecuente observar lagos venosos.

**Ganglio linfático:** No suelen estar infiltrados y raramente se reciben para diagnóstico. El grado de infiltración es variable, y la morfología de las células es similar a la descrita en bazo

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

El diagnóstico diferencial se establece principalmente con el linfoma/leucemia B esplénico con nucleolo prominente, el LEZM y el linfoma B difuso de célula pequeña de la pulpa roja.

El patrón de infiltración de la médula ósea más frecuente es intersticial, ocasionalmente intrasinusoidal, requiriendo en esas circunstancias la realización de técnicas de inmunohistoquímica para el diagnóstico (CD20).

## PANELES DE IHQ

Las células de la LCP expresan TRAP, a diferencia de los otros procesos linfoproliferativos con los que se plantea diagnóstico diferencial.

**Panel de primera línea CMF:** CD20/CD22, CD11c, CD25, CD103, CD123, κ y λ.

**Panel de primera línea IHQ:** CD20, CD3, Anexina1, ciclinaD1.

**Panel de segunda línea IHQ:** IgD, DBA44, T-BET, CD123, BRAFV600E (clon VE1), CD200.

## CITOGENÉTICA/MOLECULAR

Se ha descrito la presencia de la mutación V600E en más del 95 % de los casos de LCP. Esta mutación es un marcador diagnóstico en la LCP y un potencial marcador de selección de terapia dirigida.

## RECOMENDACIONES

1. El estudio de sangre periférica y médula ósea son las localizaciones donde se realiza normalmente el diagnóstico. Grado C. Evidencia nivel IV.
2. La morfología característica en SP/aspirado de MO y cilindro de MO con células con citoplasmas amplios y claros hace sospechar el diagnóstico de LCP. Grado C. Evidencia nivel IV.
3. CMF para la detección de expresión de CD11c, CD25, CD103, CD123 son recomendados cuando se sospecha LCP. Grado C. Evidencia nivel IV.
4. Demostración de la expresión de marcadores de diferenciación B y Anexina 1 en la biopsia cilindro de MO. En relación a la valoración de la expresión de Anexina 1 en la médula ósea hay que tener en cuenta que se expresa en células mieloides y algunos linfocitos T, pero no se ha descrito en otros linfomas B. Grado C. Evidencia nivel IV.
5. El estudio de la presencia de la mutación de BRAFV600E es recomendable, aunque no imprescindible en el momento actual para el diagnóstico de LCP. Grado C. Evidencia nivel IV.

**Bibliografía**


1. Grever MR, Abdel-Wahab O, Andritsos LA, Banerji V, Barrientos J, Blachly JS, Call TG, Catovsky D, Dearden C, Demeter J, Else M, Forconi F, Gozzetti A, Ho AD, Johnston JB, Jones J, Juliusson G, Kraut E, Kreitman RJ, Larratt L, Lauria F, Lozanski G, Montserrat E, Parikh SA, Park JH, Polliack A, Quest GR, Rai KR, Ravandi F, Robak T, Saven A, Seymour JF, Tadmor T, Tallman MS, Tam C, Tiacci E, Troussard X, Zent CS, Zenz T, Zinzani PL, Falini B. (2016)«Consensus guidelines for the diagnosis and management of patients with classic hairy cell leukemia». Blood 2016. Nov 30. pii: blood-2016-01-689422

2. Robak T, Matutes E, Catovsky D, Zinzani PL, Buske C; ESMO Guidelines Committee. «Hairy cell leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up». Ann Oncol. 2015 Sep;26 Suppl 5:v100-7.

3. Shao H, Calvo KR, Grönborg M, Tembhare PR, Kreitman RJ, Stetler-Stevenson M, Yuan CM. Distinguishing hairy cell leukemia variant from hairy cell leukemia: development and validation of diagnostic criteria. Leuk Res. 2013

4. Jones G, Parry-Jones N, Wilkins B, Else M, Catovsky D; British Committee for Standards in Haematology. Revised guidelines for the diagnosis and management of hairy cell leukaemia and hairy cell leukaemia variant*. Br J Haematol. 2012 Jan;156(2):186-95.

5. Summers TA, Jaffe ES. Hairy cell leukemia diagnostic criteria and differential diagnosis. Leuk Lymphoma. 2011 Jun;52 Suppl 2:6-10.

6. Lim MS, Molina TJ, Montes-Moreno S et al. Hairy cell leukaemia. WHO Classification of Haematolymphoid Tumours. 5h Edition. IARC 2024.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfomas B no Hodgkin: Linfomas B indolentes: Otros procesos linfoproliferativos: Linfoma B esplénico de células pequeñas, difuso de la pulpa roja

**Manuela Mollejo Villanueva**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario de Toledo, Toledo*

## DEFINICIÓN Y FRECUENCIA DE LA ENTIDAD

El linfoma B de células pequeñas esplénico difuso de la pulpa roja (LEDPR) es un linfoma que afecta médula ósea, sangre periférica y bazo. Es un linfoma muy poco frecuente, representa menos del 10 % de los linfomas B diagnosticados en el bazo. Se caracteriza por una infiltración de la pulpa roja por una población monótona de linfocitos pequeños B.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

Como el propio nombre indica, el diagnóstico definitivo requiere el examen del bazo, pero por las características de la infiltración de la médula y en sangre periférica se puede sugerir el diagnóstico.

**Sangre periférica:** Se observa una población linfoide homogénea de linfocitos de pequeño-mediano tamaño, con núcleo redondo u oval y citoplasmas basófilos con prolongaciones «vellosas». Los nucléolos no son prominentes. Se observan células linfoplasmocitoides y ocasionalmente linfocitos grandes con nucléolos prominentes en casos de progresión/transformación

**Médula ósea:** Típicamente se observa una infiltración intrasinusoidal, acompañada con un infiltrado intersticial y/o nodular de variable intensidad.

**Bazo:** Morfológicamente el bazo muestra una infiltración difusa en la pulpa roja, a nivel sinusoidal y cordonal, de linfocitos pequeños. La pulpa blanca suele estar atrófica.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

El diagnóstico diferencial se establece básicamente con el LEZM, LCP y con el linfoma/leucemia B esplénico con nucleolo prominente.

La infiltración de la médula y de la sangre periférica puede ser semejante al LEZM. Sin embargo, el examen del bazo es diferente, no observándose ni citología bifásica, ni diferenciación marginal ni reemplazamiento folicular.

El diagnóstico diferencial con la LCP se basa en la morfología (diferente patrón de prolongaciones vellosas, ausencia de fibrosis en médula), fenotipo (ausencia de anexina1, CD25, TRAP en el difuso) y molecular (ausencia de mutaciones de BRAFV600E).

El diagnóstico diferencial con el linfoma/leucemia B esplénico con nucleolo prominente se basa básicamente en la ausencia de nucléolo en el LEDPR y menor grado de linfocitosis. En cualquier caso, hay cierto solapamiento entre ambas entidades.

Se ha descrito que la ciclina D3 es expresada en la mayoría de los LEDPR, siendo un marcador útil para realizar el diagnóstico de esta entidad.

## PANELES DE IHQ

**Panel primera línea CMF:** CD20/CD22, CD25, CD103, CD123.

**Panel primera línea IHQ:** CD20, CD3, IgG, DBA44, ciclina D1.

**Panel de segunda línea:** Anexina 1, IgD, BRAF V600E (clonVE1), ciclina D3.

## CITOGENÉTICA/MOLECULAR

No hay alteraciones citogenéticas ni moleculares propias de este tumor. Se han descrito alteraciones de *TP53* con aumento de la expresión proteica en un 29 % de los casos. A diferencia del LEZM, solo es ocasional la presencia de del7q. Los estudios de secuenciación masiva han mostrado mutaciones somáticas de MAP2K1, p53, NOTCH2 y CCND3 en esta entidad.

## RECOMENDACIONES

1. El diagnostico se puede realizar en la pieza de esplenectomía, teniendo en cuenta el patrón de infiltración característico, la citomorfología y el fenotipo característicos. En la biopsia de medula ósea puede ser difícil de distinguir de otras entidades, principalmente de la leucemia/linfoma B esplénico con nucleolo prominente. Se recomienda realizar adecuada correlación citomorfológica y fenotípica en estos casos. Grado C. Evidencia nivel IV.

## Bibliografía

1. Curiel-Olmo S, Mondejar R, Almaraz C, Mollejo M, Cereceda L, Mares R, Derdak S, Campos-Martin Y, Batlle A, Gonzalez de Villambrosia S, Gut M, Blanc J,Traverseglehen A, Verney A, Baseggio L, Camacho FI, Wotherspoon A, Stamatopoulos K, Xochelli A, Papadaki T, Kanellis G, Ponzoni M, Garcia-Cosio M, Vaque JP, Beltran S, Gut I, Piris MA, Martinez N. Splenic diffuse red pulp small-B cell lymphoma displays increased expression of cyclin D3 and recurrent CCND3 mutations. Blood 2017.

2. Ponzoni M, Kanellis G, Pouliou E, Baliakas P, Scarfò L, Ferreri AJ, Doglioni C, Bikos V, Dagklis A, Anagnostopoulos A, Ghia P, Stamatopoulos K, Papadaki T. Bone marrow histopathology in the diagnostic evaluation of splenic marginal-zone and splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma: a reliable substitute for spleen histopathology? Am J Surg Pathol. 2012 Nov;36(11):1609-18

3. Traverse-Glehen A, Baseggio L, Salles G, Coiffier B, Felman P, Berger F. Splenic diffuse red pulp small-B cell lymphoma: toward the emergence of a new lymphoma entity. Discov Med. 2012 Apr;13(71):253-65. Review.

4. Kanellis G, Mollejo M, Montes-Moreno S, Rodriguez-Pinilla SM, Cigudosa JC, Algara P, Montalban C, Matutes E, Wotherspoon A, Piris MA. Splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma: revision of a series of cases reveals characteristic clinico-pathological features. Haematologica. 2010 Jul;95(7)

5. Traverse-Glehen A, Baseggio L, Bauchu EC, Morel D, Gazzo S, Ffrench M, Verney A, Rolland D, Thieblemont C, Magaud JP, Salles G, Coiffier B, Berger F, Felman P. Splenic red pulp lymphoma with numerous basophilic villous lymphocytes: a distinct clinicopathologic and molecular entity? Blood. 2008

6. Mollejo M, Algara P, Mateo MS, Sánchez-Beato M, Lloret E, Medina MT, Piris MA.Splenic small B-cell lymphoma with predominant red pulp involvement: a diffuse variant of splenic marginal zone lymphoma? Histopathology. 2002 Jan;40(1):22-30.

7. Traverse-Glehen A, Lim MS, Molina TJ et al. Splenic diffuse red pulp samll B-cell lymphoma. WHO Classification of Haematolymphoid Tumours. 5h Edition. IARC 2024.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfomas B no Hodgkin: Linfomas B indolentes: Otros procesos linfoproliferativos: Leucemia/Linfoma esplénico con nucleolo prominente

**Manuela Mollejo Villanueva**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario de Toledo, Toledo*

## DEFINICIÓN Y FRECUENCIA DE LA ENTIDAD

El linfoma/leucemia esplénico con nucléolo prominente (LENP) es una proliferación linfoide B que recuerda a la LCP pero que difiere en que muestra células con prominente nucléolo, son CD25-, TRAP -, anexina 1- y no responden a la terapia habitual de la LCP con cladribina. Es un proceso linfoproliferativo muy poco frecuente, que afecta sangre periférica, médula ósea y bazo. Suele presentar leucocitosis. En clasificaciones OMS previas y en la clasificación ICC/CAC se ha denominado tricoleucemia variante.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

El diagnóstico se realiza en sangre periférica.

**Sangre periférica:** La mayoría de las células son grandes, con prolongaciones, y nucléolos prominentes, que semejan prolinfocitos. El fenotipo por CMF es CD25-, CD103-, CD11c+, CD123+ (40 %), con un score CLL de 0-1.

**Médula ósea:** El infiltrado de la médula ósea es intersticial e intrasinusoidal, requiriendo la realización de inmunohistoquímica (CD20) para su diagnóstico.

**Bazo:** El patrón de infiltración es en la pulpa roja, con atrofia de la pulpa blanca.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

El diagnóstico diferencial se establece con la LCP, LEDPR y LEZM. Carece de expresión de anexina 1 y de la mutación BRAF V600E.

## PANELES DE IHQ

Marcadores positivos son CD20, CD19, CD79a, PAX5, DBA44, CD11c, Inmunoglobulinas de superficie (frecuentemente IgG), CD103 y FMC7.

**Panel de primera línea CMF:** CD20, CD19, CD103, CD123, CD25, CD11c

**Panel de primera línea IHQ:** CD20, CD3, Anexina 1, BRAF V600E

**Panel de segunda línea:** IgD, IgG, DBA44

## CITOGENÉTICA/MOLECULAR

No se conocen alteraciones citogenéticas/moleculares específicas de este tumor. Se han descrito mutaciones de *TP53* en un 30 % de los casos y mutaciones de MAP2K1 en un 50 % de los casos. La mutación BRAFV600E descrita en la LCP no se da en el linfoma esplénico con nucléolo prominente.

## RECOMENDACIONES

1. Es una enfermedad excepcional, no relacionada con la leucemia de células peludas. La presencia de nucléolo prominente es un rasgo distintivo de esta entidad. Grado C. Evidencia nivel IV.
2. Para su diagnóstico es preciso demostrar un fenotipo atípico para LCP. Grado B. Nivel de evidencia III.

## Bibliografía

1. Waterfall JJ, Arons E, Walker RL, et al. High prevalence of MAP2K1 mutations in variant and IGHV4-34-expressing hairy-cell leukemias. Nat Genet 2014; 46:8–10.
2. Shao H, Calvo KR, Grönborg M, Tembhare PR, Kreitman RJ, Stetler-Stevenson M, Yuan CM. Distinguishing hairy cell leukemia variant from hairy cell leukemia: development and validation of diagnostic criteria. Leuk Res. 2013 Apr;37(4):401-9
3. Jones G, Parry-Jones N, Wilkins B, Else M, Catovsky D; British Committee for Standards in Haematology. Revised guidelines for the diagnosis and management of hairy cell leukaemia and hairy cell leukaemia variant*. Br J Haematol. 2012 Jan;156(2):186-95
4. Hockley SL, Else M, Morilla A, Wotherspoon A, Dearden C, Catovsky D, Gonzalez D, Matutes E. The prognostic impact of clinical and molecular features in hairy cell leukaemia variant and splenic marginal zone lymphoma. Br J Haematol. 2012 Aug;158(3):347-54.
5. Traverse-Glehen A, Lim MS, Molina TJ, et al. Splenic B-cell lymphoma /leukaemia with prominent nucleoli. WHO Classification of Haematolymphoid Tumours. 5h Edition. IARC 2024.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfomas B no Hodgkin: Linfomas B agresivos: Linfoma de Burkitt

**Santiago Montes Moreno**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IDIVAL, Santander*

## DEFINICIÓN

El linfoma de Burkitt (LB) es un linfoma B compuesto de células de tamaño mediano, monomorfo que se suele presentar en localizaciones extraganglionares y pacientes en edad pediátrica (30-50 % de los linfomas de la infancia, 1-2 % de los linfomas en nuestro medio[1]) y jóvenes o inmunodeprimidos. Este tipo de neoplasia se caracteriza molecularmente por traslocaciones aisladas de MYC (habitualmente con IGH o cadenas ligeras, IGL (22q11) o IGK (2p12)) que constituye un requisito para el diagnóstico.

El LB es una enfermedad potencialmente curable, especialmente las formas endémicas y esporádicas. Después del tratamiento con quimioterapia de combinación intensiva a altas dosis las tasas de curación alcanzan el 80-90 % incluso en pacientes con enfermedad diseminada. Son marcadores de mal pronóstico la afectación del SNC y médula ósea (MO), masas >10 cm no resecables y LDH sérica muy elevada.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA ESTABLECER EL DIAGNÓSTICO

**Biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto:** Es el método de elección.

**Punción biopsia con aguja gruesa (BAG):** Es la aproximación a utilizar en caso de que no se pueda realizar una biopsia incisional/escisional por la situación clínica del paciente. Véase capítulo *Obtención de las muestras para diagnóstico hematopatológico*.

## TIPO DE ESTUDIOS COMPLEMENTARIOS REQUERIDOS PARA LA ESTADIFICACIÓN

**Análisis de LCR:** Debe de realizarse siempre. El SNC se encuentra afecto por LB en aproximadamente un 20 % de los casos de LB. El diagnóstico en LCR requiere excluir contaminación por SP y la demostración por CMF de una población B clonal.

**Biopsia-cilindro aspirado de médula ósea:** Es el método de elección para la estadificación de todos los casos de LB. El examen morfológico del aspirado no es suficiente para el diagnóstico en estos casos y se requiere una biopsia cilindro además de estudios inmunofenotípicos y de citogenética/FISH.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

Los casos de LB plantean el diagnóstico diferencial con neoplasias hematolinfoides y no linfoides, especialmente en edades pediátricas (Sarcoma de Ewing, por ejemplo). Entre las neoplasias hematolinfoides es esencial establecer el diagnóstico diferencial con leucemia/linfoma linfoblástico de precursores B o T, leucemia mieloide aguda indiferenciada o mínimamente diferenciada, linfoma B de células del manto (variante blastoide), linfoma B de alto grado doble hit, Linfoma B Difuso de Células grandes con reordenamientos aislados de MYC y linfoma B con alteraciones en 11q (ganancias intersticiales en 11q23.2-23.3 y pérdidas de 11q24.1-ter y usualmente ausencia de traslocación de MYC, que presenta morfologías Burkitt-like, de alto grado y de tipo LBDCG convencional).

## PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ) E HIBRIDACIÓN IN SITU CROMOGÉNICA (HIS-C)

El linfoma de Burkitt se caracteriza por mostrar un fenotipo B con expresión uniforme de marcadores de fenotipo centrogerminal como CD10 y BCL6. Se observa expresión de IgM de superficie y negatividad para BCL2 y TdT. El índice proliferativo es virtualmente del 100 % pero las condiciones de procesamiento de tejido pueden artefactar la cuantificación de la expresión de este marcador. La sobreexpresión de C-MYC en un porcentaje significativo de la celularidad tumoral es la norma en LB y se asocia con la presencia de traslocaciones del gen, tanto en LB como en LBDCG. Así, la sobreexpresión de c-Myc en más del 70 % de la celularidad neoplásica tiene una sensibilidad y valor predictivo negativo del 100 % y una especificidad del 93 % con valor predictivo positivo del 85 % en relación con la presencia de traslocaciones de MYC en linfomas B agresivos. La ausencia de sobreexpresión significativa de MYC mediante IHQ sugiere descartar linfoma B con alteraciones en 11q. En el mismo sentido, la ausencia de expresión de LMO2 se ha relacionado con la presencia de traslocaciones de MYC en linfomas B de alto grado, con elevada sensibilidad y especificidad.

**Panel de primera línea IHQ:** CD45 (ALC), CD20, CD3, CD10, Ki-67, BCL2, BCL6, TdT, C-MYC.

**Panel de primera línea CMF:** CD45 (ALC), CD20, CD3, CD10, CD5, CD19, TdT, κ, λ.

**Panel de segunda línea:** HIS para EBV-EBER.

## CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

La detección de reordenamientos de MYC mediante FISH con sondas de tipo break apart (BA) es de elección para el diagnóstico de LB. En casos negativos para este gen mediante sondas BA se recomienda realizar DF FISH para detectar el reordenamiento. Existe no obstante un porcentaje de casos (<10 %) de LB típico en los que no se detecta reordenamiento de MYC mediante FISH.

El estudio de traslocaciones de BCL2 y BCL6 debe hacerse en todos los linfomas sugestivos de Burkitt del adulto. La ausencia de reordenamientos de BCL2 y BCL6 es un requisito para el diagnóstico de LB. También debe realizarse FISH de BCL2 y BCL6 en los pacientes con histologías y/o fenotipos atípicos, incluso en edad pediátrica, tales como aquellos que presentan expresión inmunohistoquímica de BCL2. En estos casos se requiere la demostración de un reordenamiento aislado de MYC, sin que simultáneamente presenten reordenamiento de BCL2 o BCL6, para el diagnóstico de LB. En casos con morfología y fenotipo consistentes pero sin alteraciones en MYC mediante FISH se recomienda el estudio de alteraciones en 11q.

El estudio de cariotipo debe intentar realizarse siempre que exista muestra suficiente, especialmente en aquellos casos con histologías atípicas. Los cariotipos en el LB suelen ser **NO complejos**. En el 40 % de los casos la traslocación IG-MYC es la única anomalía citogenética. En el resto de los casos se detectan anomalías adicionales siendo las más frecuentes las ganancias del 1q, 7q y pérdidas del 6q,13q32-34 y 17p. Cariotipos complejos deben hacernos dudar del diagnóstico de LB. Se ha descrito un perfil molecular del linfoma de Burkitt basado en análisis de la expresión génica. El linfoma de Burkitt molecular se caracteriza por sobreexpresión de genes relacionados con c-Myc y cariotipos simples con

translocaciones de MYC como única anomalía citogenética. La correlación del perfil molecular con la morfología es baja y actualmente no se aplica para diagnóstico rutinario. Recientemente se han descrito mutaciones somáticas en MYC, ID3, GNA13, *RET*, PIK3R1, ARID1A y SMARCA4 entre otros. La presencia de mutaciones en ID3 (en el 34 % de los casos) no se encuentra en casos de DLBCL. No obstante, la utilidad de estos marcadores para el diagnóstico, pronóstico o selección de terapia está por determinar.

**RECOMENDACIONES**

1. En todos los pacientes debe hacerse biopsia de médula ósea y estudio del LCR para estadiaje. (Grado B, nivel de evidencia III).
2. Panel de primera línea IHQ: CD45 (ALC), CD20, CD3, CD10, Ki-67, BCL2, BCL6, TdT, c-Myc. (Grado C, nivel de evidencia IV).
3. Panel de primera línea CMF: CD45 (ALC), CD20, CD3, CD10, CD5, CD19, TdT, κ, λ. (Grado C, nivel de evidencia IV).
4. Panel de segunda línea: HIS para EBV-EBER. Se recomienda identificar los casos de LB EBV+ (Grado C, nivel de evidencia IV).
5. La detección de reordenamientos de MYC mediante FISH con sondas de tipo BA es de elección para el diagnóstico de LB. En casos negativos se recomienda realizar el estudio de reordenamiento IGH-MYC con sondas DF FISH para detectar el reordenamiento. (Grado C, nivel de evidencia IV).
6. El estudio de traslocaciones de BCL2 y BCL6 debe hacerse en todos los linfomas sugestivos de Burkitt del adulto y casos con hallazgos histopatológicos y fenotípicos atípicos. (Grado C, nivel de evidencia IV).
7. Se requiere la demostración de un reordenamiento aislado de MYC, sin que simultáneamente presenten reordenamiento de BCL2 o BCL6, para el diagnóstico de LB. (Grado C, nivel de evidencia IV).
8. En casos con morfología y fenotipo consistentes con LB pero sin alteraciones en MYC mediante FISH se recomienda el estudio de alteraciones en 11q. Estos casos de Linfoma B de alto grado con alteraciones en 11q usualmente no sobreexpresan la proteína MYC de forma significativa. Es excepcional la concurrencia de ambas alteraciones (traslocación de MYC y ateraciones en 11q) (Grado C, nivel de evidencia IV).
9. El estudio de cariotipo puede ser útil para el diagnóstico diferencial del LB y ocasionalmente para identificar reordenamientos no detectados por FISH. Los cariotipos complejos deben hacernos dudar del diagnóstico de LB.

**Figura 1.** Imagen H&E de un caso de linfoma de Burkitt. Nótese la morfología de célula intermedia de tipo blasto, con nucleolo inconspicuo, cromtaina fina y escaso citoplasma. Es llamativa la presencia de figuras apoptototicas y macrófagos fagocitándolas.

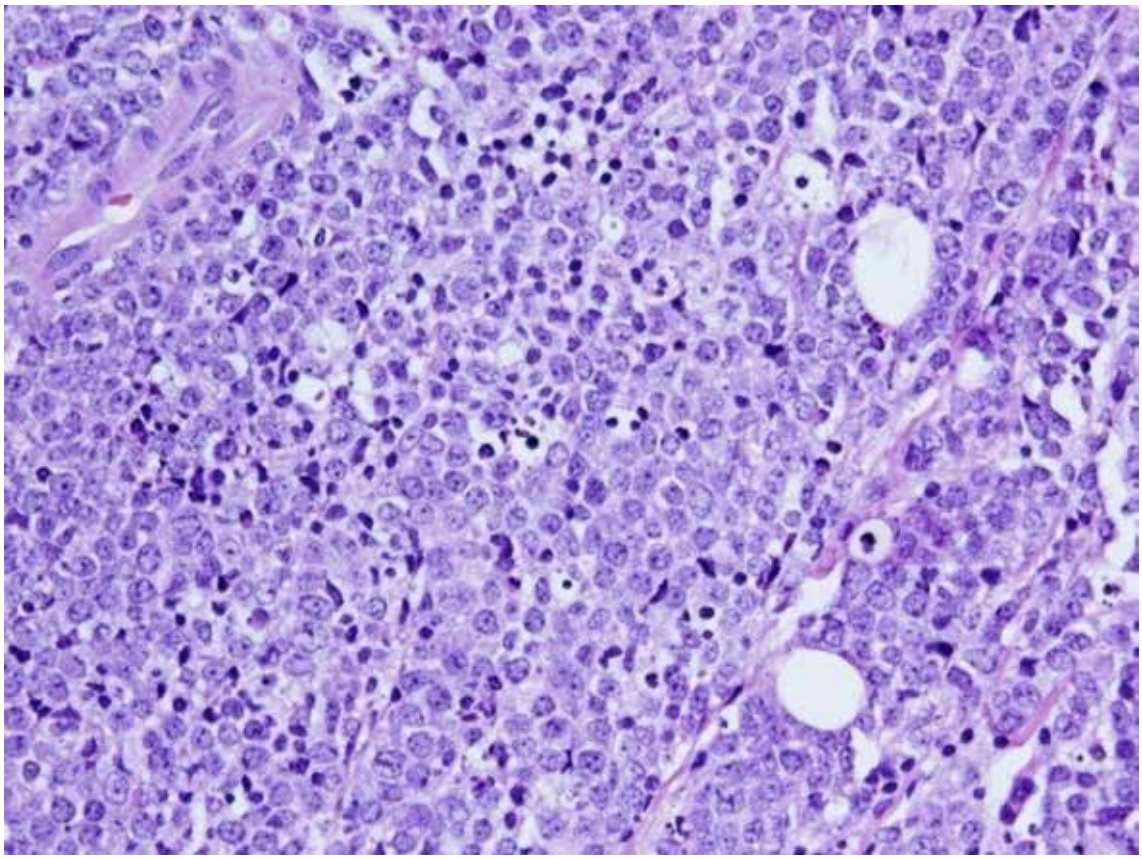
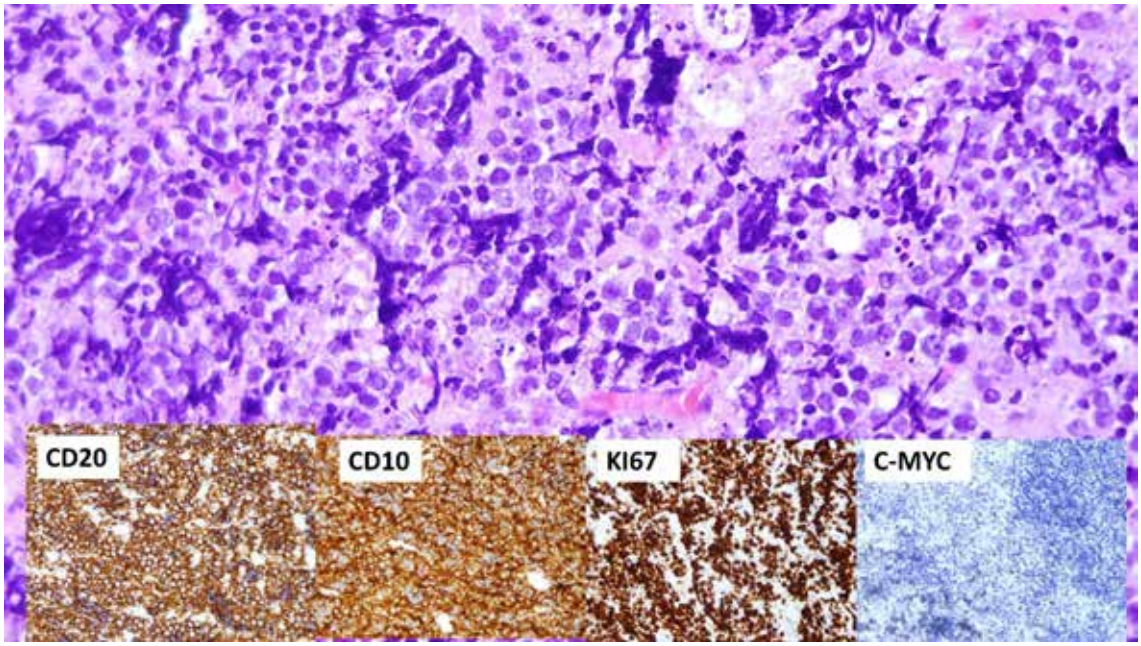


**Figura 2.** Imagen representativa de un caso con alteraciones en 11q. La ctiologia es intermedia, de tipo Burkitt y el fenotipo de tipo GCB. Es llamativa la elevada fracción proliferativa con Ki67 y la ausencia de sobreexpresión de MYC mediante IHQ. En este caso se demostraron alteraciones en 11q mediante FISH.



**Bibliografía**


1. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leukemia. 2022;36(7):1720-1748.
2. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. Blood. 2022;140(11):1229-1253.
3. Parker A BB, Devereux S, Gatter K, Jack A, Matutes E, Rooney N, Ross F, Wilkins B, Wotherspoon A, Ramsay A. Best Practice in Lymphoma Diagnosis and Reporting; 2012.
4. Gonzalez-Farre B, Ramis-Zaldivar JE, Salmeron-Villalobos J, et al. Burkitt-like lymphoma with 11q aberration: A germinal center derived lymphoma genetically unrelated to Burkitt lymphoma. Haematologica. 2019.
5. Green TM, Nielsen O, de Stricker K, Xu-Monette ZY, Young KH, Moller MB. High levels of nuclear MYC protein predict the presence of MYC rearrangement in diffuse large B-cell lymphoma. Am J Surg Pathol. 2012;36(4):612-619.
6. Ruzinova MB, Caron T, Rodig SJ. Altered subcellular localization of c-Myc protein identifies aggressive B-cell lymphomas harboring a c-MYC translocation. Am J Surg Pathol. 2010;34(6):882-891.
7. Colomo L, Vazquez I, Papaleo N, et al. LMO2-negative Expression Predicts the Presence of MYC Translocations in Aggressive B-Cell Lymphomas. Am J Surg Pathol. 2017;41(7):877-886.
8. NCCN. NCCN Guidelines, Non Hodgkin Lymphomas.
9. Dave SS, Fu K, Wright GW, et al. Molecular diagnosis of Burkitt's lymphoma. N Engl J Med. 2006;354(23):2431-2442.
10. Hummel M, Bentink S, Berger H, et al. A biologic definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. N Engl J Med. 2006;354(23):2419-2430.
11. Love C, Sun Z, Jima D, et al. The genetic landscape of mutations in Burkitt lymphoma. Nat Genet. 2012;44(12):1321-1325.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfomas B no Hodgkin: Linfomas B agresivos: Linfoma B difuso de célula grande

**Santiago Montes Moreno**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IDIVAL, Santander*

## DEFINICIÓN

El linfoma B difuso de célula grande es una neoplasia de células linfoides B de tamaño grande (núcleo igual o mayor que el de un macrófago o tamaño superior al doble de un linfocito normal) que tiene un patrón de crecimiento puramente difuso en las secciones histopatológicas. Existen una serie de variantes morfológicas, moleculares y fenotípicas, así como entidades específicas compuestas de células B grandes. En este apartado se trata del LBDCG NOS de forma general con anotaciones específicas para los subtipos/entidades de LBDCG.

El LBDCG NOS constituye del 25-30 % de los linfomas B no Hodgkin en el mundo occidental. Es más frecuente en pacientes añosos, pero puede aparecer a cualquier edad. Algunas formas pediátricas y las asociadas a infección por EBV tienen rasgos clínicopatológicos y moleculares característicos.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

**Biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto:** Es el método de elección.

**Punción biopsia con aguja gruesa (BAG):** Es la aproximación que se debe utilizar en caso de que no se pueda realizar una biopsia incisional/escisional por la situación clínica del paciente. Véase capítulo *Obtención de las muestras para diagnóstico hematopatológico*.

## TIPO DE ESTUDIOS HISTOPATOLÓGICOS REQUERIDOS PARA LA ESTADIFICACIÓN

**Biopsia-cilindro de médula ósea:** Estudio requerido para la estadificación de todos los casos de LBDCG. El examen morfológico del aspirado no es suficiente para el diagnóstico en estos casos y se requiere una biopsia cilindro. La médula ósea puede estar infiltrada de forma concordante (morfología de linfoma B difuso de células grandes), discordante (afectación por linfoma B de células pequeñas) o no infiltrada. El significado pronóstico de la infiltración discordante es limitado y en una minoría de casos representa una situación de linfoma B indolente en progresión a Linfoma B de células grandes.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

Los casos de LBDCG plantean diagnóstico diferencial histopatológico con una amplia variedad de procesos neoplásicos no linfoides y linfoides (Linfoma de Hodgkin y Linfoma T periférico, principalmente). La aproximación diagnóstica inicial debe incluir un estudio morfológico con hematoxilina-eosina (HE) y un panel básico con marcadores de línea linfoide (CD45, ALC), B (CD20, CD79α, PAX5) y T (CD3). Una vez determinada la naturaleza linfoide B del infiltrado de células grandes el diagnóstico diferencial debe tener en cuenta:

- Linfoma B de células del manto (variante pleomórfica).
- Linfoma B de alto grado (Linfoma B de alto grado DH, NOS).
- Linfomas B con rasgos intermedios entre Linfoma de Hodgkin y Linfoma B Difuso de Células grandes.
- **Subtipos específicos de linfomas B de células grandes:** Linfoma B rico en células T e histiocitos, Linfoma B de células grandes EBV positivo, Linfoma B difuso de territorios inmunoprivilegiados (SNC y primario testicular, según la OMS), Linfoma B Difuso primariamente cutáneo (tipo pierna), Linfoma B difuso primario mediastínico, Linfoma plasmablástico, Linfoma B ALK positivo, Linfoma B HHV-8+ NOS, Linfoma B de célula grande primario de cavidades, granulomatosis linfomatoide, linfoma B difuso asociado con inflamación crónica, Linfoma B de célula grande asociado a fibrina, Linfoma B de célula grande intravascular, Linfoma B de alto grado con alteraciones en 11q, Linfoma B de célula grande con reordenamiento de IRF4 Linfoma B de célula grande asociado a derrames.

Este diagnóstico diferencial debe tener en cuenta características clínicas de la enfermedad (localización de las lesiones) y del paciente (edad), así como rasgos morfológicos específicos de la neoplasia (morfología Hodgkin-like, morfología plasmablástica) e inmunofenotípicos.

## PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ) E HIBRIDACIÓN IN SITU CROMOGÉNICA (HIS-C).

Se reconocen al menos dos variantes moleculares de LBDCG NOS, el subtipo centro germinal (GCB) y el subtipo activado (ABC). Estas variantes moleculares se definen en función del perfil de expresión génica determinada mediante análisis de expresión de ARNm, de modo que la mayoría de las series publicadas asignan un porcentaje de casos al tipo ABC entre el 46 y 48 %. Se han desarrollado varios algoritmos inmunohistoquímicos que son subrogados imperfectos del perfil de expresión génica con tasas de concordancia variables en torno al 90 %. Ya que la IHQ es un método factible para la subclasificación de estos casos se recomienda incluir, al menos, el fenotipado según el algoritmo de Hans en los casos de LBDCG. Es preciso incluir en el informe el porcentaje estimado de células positivas para cada marcador analizado. Adicionalmente hay evidencia de que la coexpresión mediante inmunohistoquímica de C-MYC y BCL2 en casos de LBDCG (C-MYC ≥40 %, BCL2 ≥70 %) identifica un subgrupo de LBDCG de conducta clínica especialmente agresiva. Se recomienda incluir la determinación de la expresión de C-MYC y BCL2, identificando el porcentaje estimado de células positivas. Asimismo, la expresión de CD30 en casos de LBDCG se asocia con rasgos clínicopatológicos y moleculares específicos. La potencial disponibilidad de terapias específicas frente esta molécula hace aconsejable identificar la positividad y el porcentaje estimado de células positivas para CD30 en cada caso de LBDCG. Otro marcador que se ha relacionado con pronóstico en LBDCG es CD5. Se ha demostrado en series retrospectivas multicéntricas que la expresión de CD5 se asocia con características clínico-patológicas particulares y peor pronóstico tras R-CHOP en LBDCG.

En cualquier caso, este tipo de subdivisiones pronósticas independientes del índice IPI no tienen hoy mucha aplicabilidad clínica fuera de los ensayos clínicos, ya que no se utilizan estrategias terapéuticas diferentes para los distintos subgrupos de pacientes.

Existe un conjunto de subtipos de linfomas B de células grandes con morfología inmunoblástica y plasmablástica que se asocian con rasgos clinicopatológicos distintivos. Para su identificación precisa se requiere un panel que permita la identificación de un fenotipo específico (pérdida de marcadores de

línea B y adquisición de marcadores de diferenciación terminal) asociado con marcadores propios de las diferentes entidades (EBV-EBER y C-MYC en el caso de linfomas plasmablásticos, HHV-8 en el caso de linfomas de cavidades, por ejemplo). Se recomienda el uso de un panel específico de segunda línea en estos casos para subclasificar adecuadamente la neoplasia.

Algunas entidades específicas incluyen en su definición la demostración de la presencia de EBV en las células neoplásicas. Entre estas se encuentran además de los ya citados, los casos de Linfoma B Difuso de Células Grandes asociado a EBV (incluyendo aquí casos en pacientes de cualquier edad), los casos de granulomatosis linfomatoide y casos de desorden linfoproliferativo post-trasplante de tipo LBDCG. En estos casos la demostración de EBV-EBER mediante ISH-C es un requisito para el diagnóstico. En su defecto una inmunotinción positiva para EBV-LMP1 es un subrogado adecuado. La negatividad para EBV-LMP1 no descarta la presencia de EBV, siendo la ISH EBV-EBER la técnica de sensibilidad óptima en tejido adecuadamente fijado.

Los casos de Linfoma B de célula grande con traslocación de IRF4 suelen presentar una morfología mixta, nodular y/o difusa y coexpresion intensa de BCL6 y MUM1. Su aparición en el anillo de Waldeyer, ganglios laterocervicales o tubo digestivo, así como su predilección por paciente jóvenes pueden hacer sospechar el diagnóstico, que se confirmaría mediante el estudio FISH.

Los casos de Linfoma B de alto grado con alteraciones en 11q pueden mostrar aspectos morfológicos de tipo LB o formas blastoides e intermedias entre LB y LBDCG. La ausencia de sobreexpresión significativa de MYC mediante IHQ y de tralocacion de MYC por FISH debe sugerir el diagnóstico que se confirmaría mediante el estudio FISH de 11q.

**Panel de primera línea**: CD45 (ALC), CD20, CD19, CD79 **α/b**, CD3. En caso de terapia previa con antiCD20 es útil el uso de otros marcadores de línea B como CD19, PAX5, OCT2, CD79 **α/b**.

**Paneles de segunda línea:**

- Necesario en casos con el probable diagnóstico de LBDCG NOS: CD10, BCL6, MUM1, BCL2, C-MYC, Ki67, ciclinaD1.
- Aconsejable en casos con el probable diagnóstico de LBDCG NOS: CD30, CD5.
- Necesario en casos con morfología inmunoblástica/plasmablástica: CD138, CD38, Ki67, MUM1, C-MYC, HHV-8, ALK, EBV-EBER.
- Necesario en casos con sospecha de linfoma B EBV positivo: EBV-EBER (en su defecto EBV-LMP1+). La negatividad para EBV-LMP1 no descarta la presencia de ARNs de EBV detectables con EBER.
- FISH de MYC y BCL2 para descartar LBDCG DH.
- FISH de IRF4 y 11q en casos seleccionados.

## CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

El estudio de FISH para la detección de reordenamientos de MYC, BCL2 y BCL6 utilizando sondas de tipo BA es de utilidad para identificar casos con alteraciones citogenéticas múltiples asociadas con mal pronóstico clínico y potenciales candidatos a terapias no estándar. De hecho, **la presencia concurrente y simultánea de traslocaciones de MYC y BCL2 en un caso de linfoma B difuso indica el diagnóstico de Linfoma B de alto grado/LBDCG DH, en lugar del de LBDCG NOS**. Existe evidencia preliminar de que el impacto pronóstico adverso se limita a los casos que presentan reordenamientos de MYC con inmunoglobulina (Ig-MYC).

La presencia de traslocaciones en estos genes, particularmente en MYC y BCL2 se asocia estrechamente son la sobreexpresión de la proteína en porcentajes significativos de la celularidad neoplásica y en casos con fenotipo GCB.

Los métodos de cribado mediante inmunohistoquímica tienen una sensibilidad insuficiente para la selección de estos casos, por lo que se considera recomendable la realización de FISH en todo caso con

morfología de tipo Linfoma B difuso de célula grande y morfología de alto grado (blastoide o intermedia entre LB y LBDCG) para la identificación de los casos con DH.

Cerca de un 2 % de los casos de LBDCG sobreexpresan ciclina D1 mediante IHQ. Si se observa la sobreexpresión homogénea e intensa de ciclina D1 mediante IHQ es necesario realizar FISH de *CCND1* para descartar una forma pleomórfica de LCM.

La presencia de traslocaciones de MYC y ALK está descrita en algunos subtipos de linfoma B de células grandes de morfología inmunoblástica/plasmablástica. La demostración de estas alteraciones mediante sondas FISH de tipo BA es aconsejable pero no estrictamente necesaria para un diagnóstico.

Se ha descrito un subgrupo de Linfomas B de fenotipo centrogerminal (LBDCG y LF) con traslocaciones de MUM1/IRF4. Se caracteriza molecularmente por la presencia de la traslocación Ig-IRF4, usualmente en ausencia de reordenamientos en MYC y BCL2.

Recientemente se han descrito diferentes clusters genéticos en LBDCG, en función de la combinación de mutaciones somáticas y reordenamientos en determinados genes (BCL2 y BCL6). Algunos de estos clusters se asocian con presentaciones clínico-patológicas especiales (i.e cluster MCD/C5 con alteraciones en MYD88L26P, CD79 y presentación extraganglionar en lugares inmunoprivilegiados) o se asocian con pronóstico clínico (i.e cluster N1 (mutaciones en MOTCH1) y pronóstico adverso o cluster EZB MYC+/MYC- con pronóstico dispar). La aplicación de tecnologías de secuenciación masiva del exoma o paneles dirigidos para la detección de estas alteraciones se encuentra en fase experimental.

**RECOMENDACIONES**

1. Panel de primera línea (IHQ): CD45 (ALC), CD20, CD19, CD79α/b, CD3. En caso de terapia previa con antiCD20 es útil el uso de otros marcadores de línea B como CD19, PAX5, OCT2, CD79α/b. (Grado C, nivel de evidencia IV).

2. Paneles de segunda línea (IHQ): Necesario en casos con el probable diagnóstico de LBDCG NOS: CD10, BCL6, MUM1, BCL2, C-MYC, Ki67, CD30, ciclinaD1. (Grado C, nivel de evidencia IV).

3. Se recomienda incluir en el diagnóstico la subclasificación en GCB-ABC según el algoritmo de Hans, especificando en el informe el porcentaje de células positivas para cada marcador evaluado. (Grado C, nivel de evidencia IV).

4. Se recomienda incluir la determinación de la expresión de C-MYC y BCL2, identificando el porcentaje estimado de células positivas para cada marcador. (Grado C, nivel de evidencia IV).

5. Se aconseja identificar la positividad y el porcentaje estimado de células positivas para CD30 y CD5 en cada caso de LBDCG. (Grado C, nivel de evidencia IV).

6. Paneles de segunda línea: Necesario en casos con morfología inmunoblástica/plasmablástica: CD138, CD38, Ki67, MUM1, C-MYC, HHV-8, ALK, EBV-EBER (en su defecto EBV-LMP1). (Grado C, nivel de evidencia IV).

7. Paneles de segunda línea: Necesario en casos con sospecha de linfoma B EBV positivo: EBV-EBER (en su defecto EBV-LMP1). (Grado C, nivel de evidencia IV).

8. FISH de MYC y BCL2 en todos los casos de LBDCG. (Grado C, nivel de evidencia IV).

9. La presencia de un doble hit genético (reordenamientos concurrentes de IGH-BCL2/t(14;18)(q32;q21) y MYC(8q24) se debe hacer constar en el informe anatomopatológico e indica el diagnóstico de Linfoma B de alto grado/LBDCG DH. (Grado C, nivel de evidencia IV).

10. Si se observa la sobreexpresión homogénea e intensa de ciclinaD1 mediante IHQ es necesario realizar FISH de *CCND1* para descartar una forma pleomórfica de LCM. (Grado C, nivel de evidencia IV).

11. La demostración de alteraciones de MYC y ALK en casos de morfología inmunoblástica/plasmablástica mediante sondas FISH de tipo BA es aconsejable pero no estrictamente necesaria para un diagnóstico. (Grado C, nivel de evidencia IV).

12. La demostración de traslocaciones de MUM1/IRF4 mediante sondas FISH de tipo BA es aconsejable para el diagnóstico de la entidad asociada con este reordenamiento. (Grado C, nivel de evidencia IV).

13. La ausencia de sobreexpresión significativa de MYC mediante IHQ y de tralocacion de MYC por FISH debe sugerir el diagnóstico que se confirmaría mediante el estudio FISH de 11q.

14. El estudio de cariotipo no es necesario, pero sí recomendable en caso de existir muestra suficiente en el panel diagnóstico habitual del LBDCG. (Grado C, nivel de evidencia IV).

**Figura 1.** Imagen H&E de un caso de LBDCG NOS, morfología centroblastica. El caso presentaba un fenotipo no-GCB, genotipò MCD según Lymphgen, con mutación MYD88L265P y ausencia de reordenamientos en MYC y BCL2.

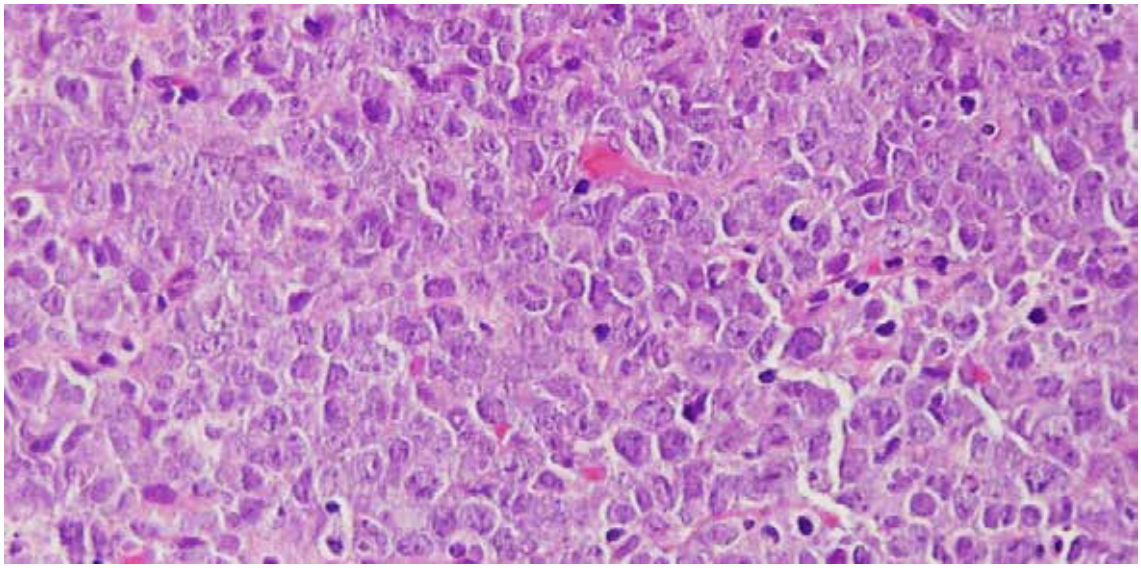


**Figura 2.** Imagen H&E de un caso de LBDCG EBV+. El caso presenta morfología intermedia, con alta densidad celular, células de tipo Hodgkin-like y un microambiente polimorfo. Se demostró EBV mediante CISH para EBV-EBERs. El caso presentaba un fenotipo no-GCB con sobreexpresión de CD30.

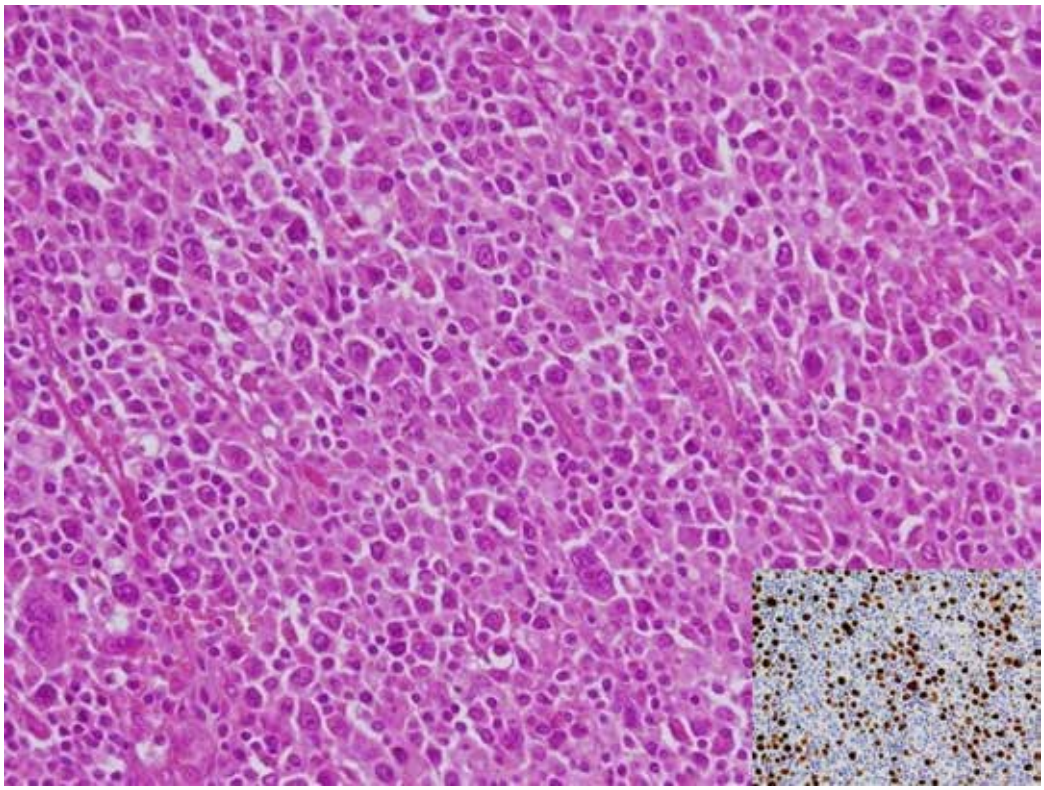


**Figura 3.** Imagen H&E de un caso de Linfoma B rico en células T e histiocitos. Nótese la escasez de células neoplásicas de tipo blasto en un microambiente rico en células T.

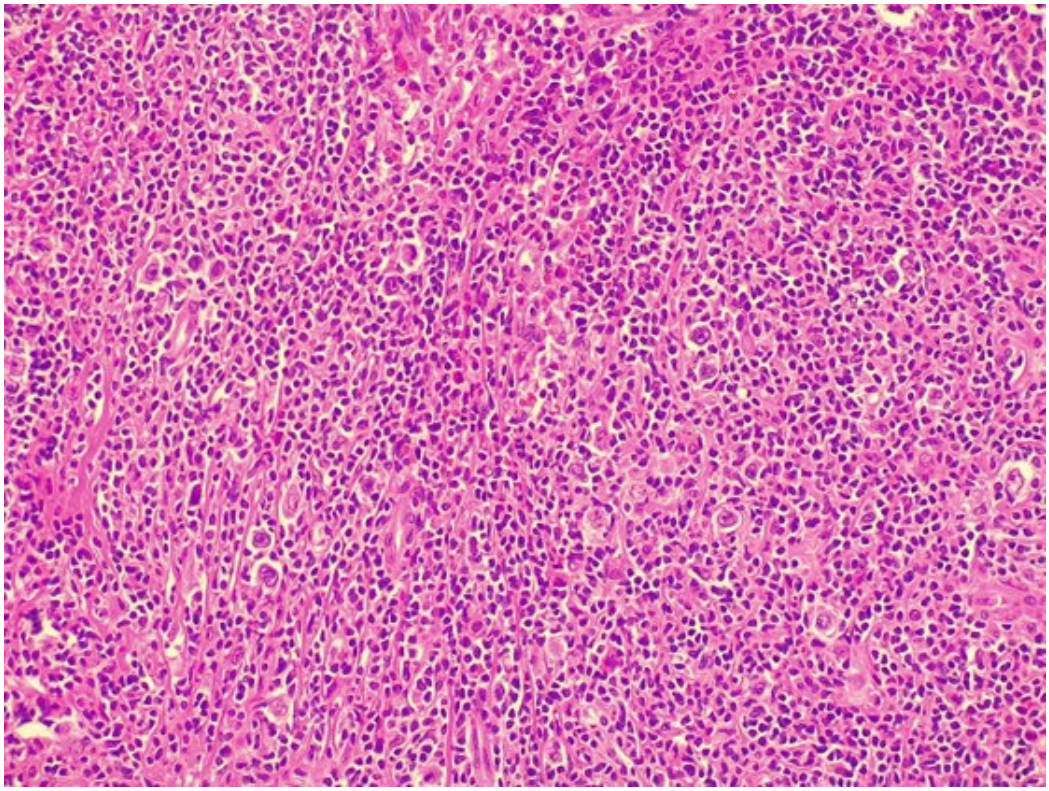


**Figura 4.** Imagen representativa de un caso de linfoma plasmablastico. Nótese la presencia de celuias grandes con nucleolo eosinófilo único y prominente, cromtaina vesiculosa y citoplasma amplio. Se observan macrófagos entremezclados. El caso resulto ser EBV+ y mostraba un fenotipo plasmoceular.

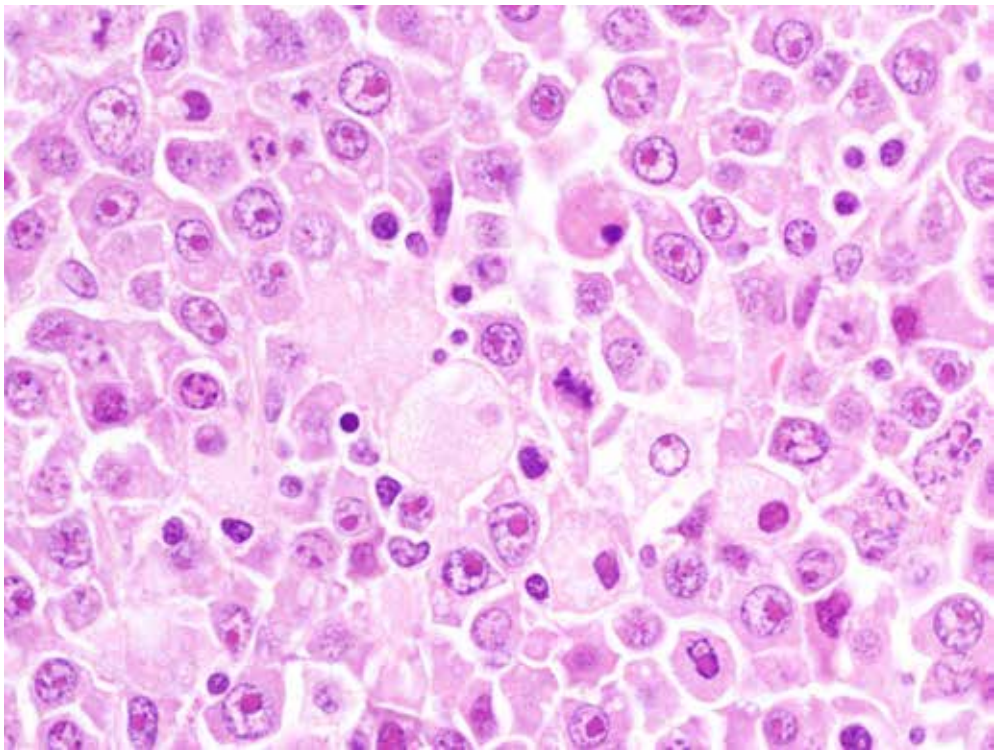
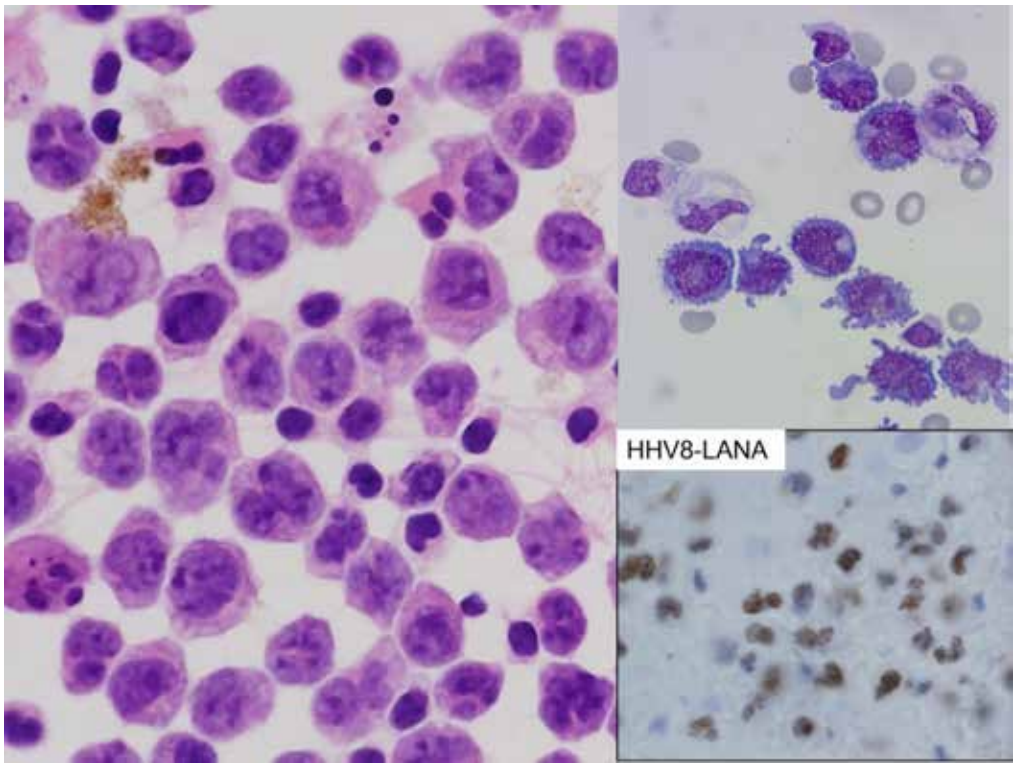


**Figura 5.** Imagen representativa de la morfología citológica de un caso de linfoma primario de cavidades HHV8+. Nótese la morfología nuclear polilobulada y expresión de HHV-8 medianta inmunocitoquimico en el bloque celular del derrame. El caso presentaba un fenotipo plasmocelular mediante CMF.



**Bibliografía**


1. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leukemia. 2022;36(7):1720-1748.
2. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. Blood. 2022;140(11):1229-1253.
3. Salaverria I, Philipp C, Oschlies I, et al. Translocations activating IRF4 identify a subtype of germinal center-derived B-cell lymphoma affecting predominantly children and young adults. Blood. 2011;118(1):139-147.
4. Klapper W, Kreuz M, Kohler CW, et al. Patient age at diagnosis is associated with the molecular characteristics of diffuse large B-cell lymphoma. Blood. 2012;119(8):1882-1887.
5. Nakamura S JE, Swerdlow SH. EBV positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly. Lyon; 2008.
6. Santiago Montes-Moreno LO, Julio Alexander Diaz-Perez, Ana Batlle Lopez, Sonia Gonzalez de Villambrosía, Francisco Mazorra, Maria E. Castillo, Mar Lopez, Raquel Pajares, Juan F. García, Manuela Mollejo, Francisca I. Camacho, Carmen Ruiz-Marcellán, Magdalena Adrados, Nazario Ortiz, Renato Franco, Carlos Ortiz-Hidalgo, Ana Suarez-Gauthier, Ken H Young, Miguel A. Piris. EBV-positive Diffuse Large B Cell Lymphoma of the elderly is an agressive post-germinal center B cell neoplasm characterized by prominent Nuclear Factor-kB activation.: Modern Pathology; 2012.
7. Sehn LH, Scott DW, Chhanabhai M, et al. Impact of concordant and discordant bone marrow involvement on outcome in diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. J Clin Oncol. 2011;29(11):1452-1457.
8. Chung R, Lai R, Wei P, et al. Concordant but not discordant bone marrow involvement in diffuse large B-cell lymphoma predicts a poor clinical outcome independent of the International Prognostic Index. Blood. 2007;110(4):1278-1282.
9. Parker A BB, Devereux S, Gatter K, Jack A, Matutes E, Rooney N, Ross F, Wilkins B, Wotherspoon A, Ramsay A. Best Practice in Lymphoma Diagnosis and Reporting; 2012.
10. Visco C, Li Y, Xu-Monette ZY, et al. Comprehensive gene expression profiling and immunohistochemical studies support application of immunophenotypic algorithm for molecular subtype classification in diffuse large B-cell lymphoma: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. Leukemia. 2012;26(9):2103-2113.
11. Meyer PN, Fu K, Greiner TC, et al. Immunohistochemical methods for predicting cell of origin and survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab. J Clin Oncol. 2011;29(2):200-207.
12. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. Blood. 2004;103(1):275-282.
13. Hu S, Xu-Monette ZY, Tzankov A, et al. MYC/BCL2 protein co-expression contributes to the inferior survival of activated B-cell subtype of diffuse large B-cell lymphoma and demonstrates high-risk gene expression signatures: a report from The International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. Blood. 2013.

14. Green TM, Young KH, Visco C, et al. Immunohistochemical double-hit score is a strong predictor of outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. J Clin Oncol. 2012;30(28):3460-3467.

15. Johnson NA, Slack GW, Savage KJ, et al. Concurrent expression of MYC and BCL2 in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. J Clin Oncol. 2012;30(28):3452-3459.

16. Hu S, Xu-Monette ZY, Balasubramanyam A, et al. CD30 expression defines a novel subset of diffuse large B-cell lymphoma with favorable prognosis and distinct gene expression signature: a report from The International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. Blood. 2013.

17. Xu-Monette ZY, Tu M, Jabbar KJ, et al. Clinical and biological significance of de novo CD5+ diffuse large B-cell lymphoma in Western countries. Oncotarget. 2015;6(8):5615-5633.

18. Aukema SM, Siebert R, Schuuring E, et al. Double-hit B-cell lymphomas. Blood. 2011;117(8):2319-2331.

19. Rosenwald A, Bens S, Advani R, et al. Prognostic Significance of MYC Rearrangement and Translocation Partner in Diffuse Large B-Cell Lymphoma: A Study by the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. J Clin Oncol. 2019;37(35):3359-3368.

20. Copie-Bergman C, Cuillière-Dartigues P, Baia M, et al. MYC-IG rearrangements are negative predictors of survival in DLBCL patients treated with immunochemotherapy: a GELA/LYSA study. Blood. 2015;126(22):2466-2474.

21. Ruzinova MB, Caron T, Rodig SJ. Altered subcellular localization of c-Myc protein identifies aggressive B-cell lymphomas harboring a c-MYC translocation. Am J Surg Pathol. 2010;34(6):882-891.

22. Pillai RK, Sathanoori M, Van Oss SB, Swerdlow SH. Double-hit B-cell lymphomas with BCL6 and MYC translocations are aggressive, frequently extranodal lymphomas distinct from BCL2 double-hit B-cell lymphomas. Am J Surg Pathol. 2013;37(3):323-332.

23. Ok CY, Li L, Xu-Monette Z, et al. Prevalence and Clinical Implications of Epstein-Barr Virus Infection in de novo Diffuse Large B-Cell Lymphoma in Western Countries. Clin Cancer Res. 2014.

24. Valera A, Balagué O, Colomo L, et al. IG/MYC rearrangements are the main cytogenetic alteration in plasmablastic lymphomas. Am J Surg Pathol. 2010;34(11):1686-1694.

25. Valera A, Colomo L, Martinez A, et al. ALK-positive large B-cell lymphomas express a terminal B-cell differentiation program and activated STAT3 but lack MYC rearrangements. Mod Pathol. 2013;26(10):1329-1337.

26. de Leval L, Alizadeh AA, Bergsagel PL, et al. Genomic profiling for clinical decision making in lymphoid neoplasms. Blood. 2022;140(21):2193-2227.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfomas B no Hodgkin: Linfomas B agresivos: Linfoma B de alto grado/Linfoma B difuso de célula grande (morfología) doble hit (MYC&BCL2). Linfoma B de alto grado (morfología) NOS

**Santiago Montes Moreno**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IDIVAL, Santander*

**DEFINICIÓN**

Estas dos categorías diagnósticas en la actual clasificación de la OMS son un grupo de neoplasias que no cumplen con los criterios diagnósticos establecidos para LB, linfoma B de alto grado con alteraciones en 11q o LBDCG. Las características morfológicas constituyen el primer requisito para el diagnóstico de este tipo de neoplasias.

Una fracción de estos tumores muestran morfología de alto grado que incluye 1) una morfología atípica para LB con áreas con una celularidad mixta de tamaño intermedio y grande, mitosis, patrón en cielo estrellado (morfologías de tipo intermedio entre linfoma de Burkitt y LBDCG, semejantes a LB o LB-like), 2) una morfología de aspecto blastoide.

El resto de estos tumores, sin embargo presentan una morfología de linfoma B difuso de célula grande convencional, indistinguible de la del LBDCG NOS. Si el caso tiene una morfología uniforme concordante con LBDCG se incluirá en esta categoría en el caso de que se demuestre doble reordenamiento de los genes MYC, BCL2.

En caso de que el caso presente morfología de LBDCG y un reordenamiento aislado de MYC se seguirá considerando LBDCG.

Si el caso presenta una morfología de alto grado pero carece de reordenamientos concurrentes de MYC y BCL2 se denominaría Linfoma B de alto grado NOS.

En estos casos de Linfoma B de alto grado NOS la prevalencia de reordenamientos en MYC es variable. Los casos de Linfoma B de alto grado NOS con traslocación de MYC presentan un pronóstico desfavorable en comparación con LBDCG. En casos de Linfoma B de alto grado (NOS) sin traslocaciones de MYC se debe valorar el diagnóstico diferencial con linfoma B de alto grado con alteraciones en 11q.

Un porcentaje de estos casos representan la transformación de un Linfoma B Folicular de bajo grado previo.

Este tipo de neoplasias son relativamente infrecuentes pero como grupo son más frecuentes que el linfoma de Burkitt en pacientes adultos. Habitualmente muestran rasgos clínicos de alto riesgo (IPI intermedio-alto, estadios avanzados y un pronóstico muy adverso con terapia basada en R-CHOP, R-CHOP-like por lo que se consideran terapias más intensivas.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

**Biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto:** Es el método de elección.

**Punción biopsia con aguja gruesa (BAG):** Es la aproximación a utilizar en caso de que no se pueda realizar una biopsia incisional/escisional por la situación clínica del paciente. Véase capítulo *Obtención de las muestras para diagnóstico hematopatológico*.

## TIPO DE ESTUDIOS REQUERIDOS PARA LA ESTADIFICACIÓN

**Análisis de LCR:** El diagnóstico en LCR requiere excluir contaminación por SP y la demostración por CMF de una población B clonal.

**Biopsia-cilindro de médula ósea:** El examen morfológico del aspirado no es suficiente para el diagnóstico en estos casos y se requiere una biopsia cilindro y estudios inmunofenotípicos y de citogenética/FISH.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

Los casos de Linfoma B de alto grado DH/NOS plantean el diagnóstico diferencial con leucemia/linfoma linfoblástico de precursores B, linfoma B de células del manto (variante blastoide), Linfoma B Difuso de Células grandes, linfoma de Butkitt y Linfoma B con alteraciones en 11q.

## PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ) E HIBRIDACIÓN IN SITU CROMOGÉNICA (HIS-C)

Estos casos suelen mostrar un fenotipo de tipo centro germinal con expresión habitual de CD10 y BCL6 y expresión variable de BCL2 (~50 %). En algunas series publicadas la sobreexpresión intensa de BCL2 se encuentra en hasta el 79 % de los casos y es un marcador útil en la distinción con LB. Otras alteraciones como la ausencia de expresión de CD10 también ayudan a identificar un fenotipo atípico para LB y apoyan el diagnóstico. El índice proliferativo con Ki67 es habitualmente homogéneo y mayor del 90 %. Aproximadamente la mitad de los casos muestran sobreexpresión de C-MYC en al menos el 50 % de la celularidad neoplásica. La expresión de TdT por parte de la neoplasia se puede encontrar en casos de Linfoma B de alto grado DH y requiere de un estudio fenotípico (IHQ, CMF) completo y de correlación clínica para la distinción correcta con linfoma B de precursores linfoblásticos. La ausencia de expresión de LMO2 se ha relacionado con la presencia de traslocaciones de MYC en linfomas B de alto grado, con elevada sensibilidad y especificidad.

**Panel de primera línea IHQ:** CD45 (ALC), CD20, CD19, CD3, CD10, Ki-67, BCL2, BCL6, TdT, C-MYC, ciclinaD1.

**Panel de primera línea CMF:** CD45 (ALC), CD20, CD3, CD10, CD5, CD19, TdT, κ, λ.

## CITOGENÉTICA

El análisis de FISH es necesario para demostrar la presencia de traslocaciones de MYC, BCL2. Se distinguen casos con DH y morfología diversa (con rasgos intermedios entre LB/LBDCG, blastoide y

LBDCG) con casos con morfología intermedia entre LB/LBDCG o blastoide sin presencia de DH (Linfoma B de alto grado NOS).

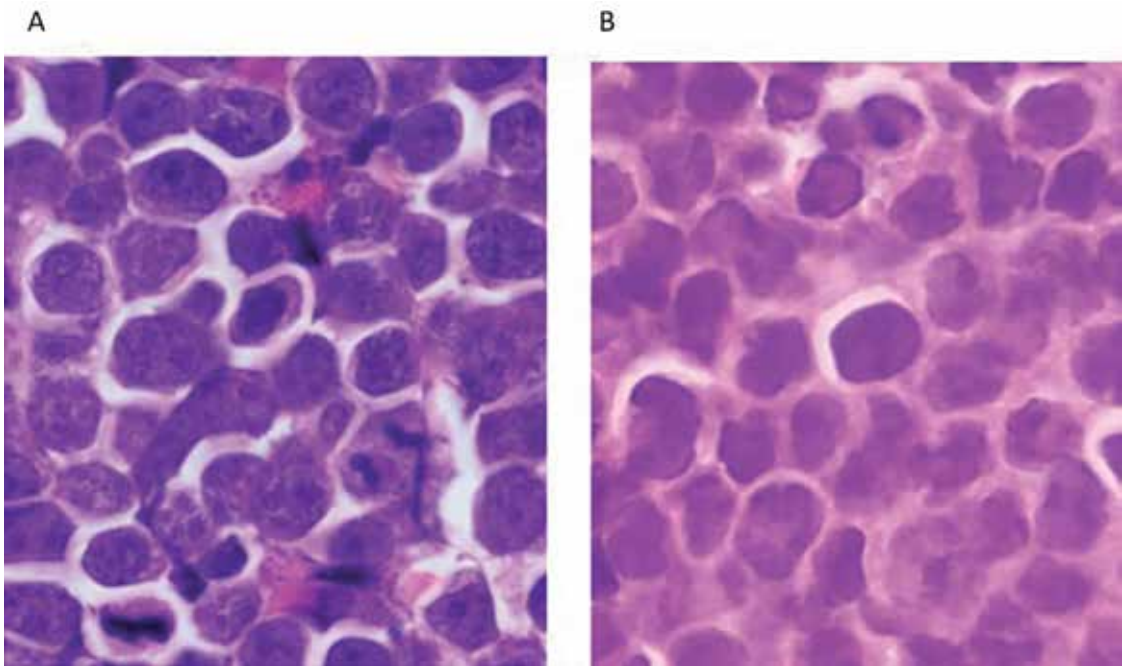
Los linfomas con doble hit son el subgrupo mejor caracterizado de estos casos y se definen por la presencia de reordenamientos concurrentes de IGH-BCL2/t(14;18)(q32;q21) y reordenamientos de MYC/8q24(6). Un porcentaje variable de estos casos (15-30 %) representan la transformación de un Linfoma B folicular de bajo grado (G1, G2) previo. Es destacable, no obstante, que entre el 30 %-67 % de los casos con morfología intermedia entre LB y LBDCG puede no tener traslocaciones concurrentes de MYC y BCL2, considerándose Linfomas B de alto grado NOS.

Así, la detección de reordenamientos de MYC, BCL2 mediante FISH con sondas de tipo BA debe hacerse en todos los linfomas con patrones morfológicos de linfoma B con rasgos intermedios entre LB/LBDCG, linfoma B blastoide y LBDCG convencional (particularmente en aquellos con fenotipo GCB). La presencia de reordenamientos aislados de MYC debe hacer considerar la posibilidad de un LB de morfología atípica si el fenotipo es de tipo LB (CD10+BCL6+BCL2-). El estudio del cariotipo no es necesario pero recomendable, dado su potencial utilidad en el diagnóstico diferencial y para la identificación de anomalías secundarias.

**RECOMENDACIONES**

1. Panel de primera línea IHQ: CD45 (ALC), CD20, CD19, CD3, CD10, Ki-67, BCL2, BCL6, TdT, C-MYC, ciclinaD1. (Grado C, nivel de evidencia IV).
2. El diagnóstico de linfoma B de alto grado se puede establecer en el caso de que se observe un patrón morfológico de alto grado, esto es: linfoma B intermedio entre LB y LBDCG o un patrón morfológico blastoide, una vez excluido linfoma B linfoblástico. Si el caso presenta DH se diagnosticara como Linfoma B de alto grado DH. Si no se identifica DH se diagnosticará como Linfoma B de alto grado NOS.
3. El diagnóstico de Linfoma B de alto grado/LBDCG DH requiere de la demostración de reordenamientos de MYC y BCL2. Se excluyen casos que cumplen con criterios de linfoma B folicular (en ausencia de un componente difuso de alto grado) y linfomas B de precursores linfoblasticos.
4. Una morfología típica de LBDCG puede presentar DH (LBDCG DH). Estos casos, en su gran mayoría presentan un fenotipo GCB. (Grado C, nivel de evidencia IV).
5. Se recomienda hacer constar en el informe si el caso de Linfoma B de alto grado/LBDCG DH/NOS se desarrolla en el contexto de un linfoma B folicular previo. (Grado C, nivel de evidencia IV).
6. Una morfología de LB atípico con un fenotipo de LB (CD10+BCL6+BCL2-) y un reordenamiento aislado de MYC (demostrada la ausencia de alteraciones en BCL2 y BCL6) debe considerarse LB atípico.
7. La detección de reordenamientos de MYC, BCL2 mediante FISH con sondas de tipo BA debe realizarse en todos los linfomas sugestivos de linfoma B de alto grado e idealmente en todos los casos con morfología de LBDCG. En caso de ausencia de detección de reordenamiento de MYC con sondas de tipo BA se debe considerar el uso complementario de sondas de tipo DF (Grado C, nivel de evidencia IV).
8. La presencia de un doble hit genético (reordenamientos concurrentes de IGH-BCL2/t(14;18)(q32;q21) y MYC(8q24) se debe hacer constar en el informe anatomopatológico. (Grado C, nivel de evidencia IV).

**Figura 1.** A y B. Imágenes H&E mostrando dos casos con morfología de alto grado. En A, un caso con morfología intermedia entre LB y LBDCG, en B un caso con morfología blastoide. Nótese la citología intermedia con cromatina homogénea, nucleolo inconspicuo y abundantes mitosis. En los dos csos se demostraron un fenotipo GCB y reordenamientos concurrentes de MYC y BCL2 mediante FISH de interfase.




**BIBLIOGRAFÍA**

1. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leukemia. 2022;36(7):1720-1748.

2. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. Blood. 2022;140(11):1229-1253.

3. Li, S., Qiu, L., Xu, J. et al. High-grade B-cell lymphoma (HGBL)-NOS is clinicopathologically and genetically more similar to DLBCL/HGBL-DH than DLBCL. Leukemia (2022). https://doi.org/10.1038/s41375-022-01778-9.

4. Snuderl M, Kolman OK, Chen YB, Hsu JJ, Ackerman AM, Dal Cin P, et al. B-cell lymphomas with concurrent IGH-BCL2 and MYC rearrangements are aggressive neoplasms with clinical and pathologic features distinct from Burkitt lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma. Am J Surg Pathol. 2010 Mar;34(3):327-40.

5. Li S, Lin P, Fayad LE, Lennon PA, Miranda RN, Yin CC, et al. B-cell lymphomas with MYC/8q24 rearrangements and IGH@BCL2/t(14;18)(q32;q21): an aggressive disease with heterogeneous histology, germinal center B-cell immunophenotype and poor outcome. Mod Pathol. 2012 Jan;25(1):145-56.

6. Aukema SM, Siebert R, Schuuring E, van Imhoff GW, Kluin-Nelemans HC, Boerma EJ, et al. Double-hit B-cell lymphomas. Blood. 2011 Feb;117(8):2319-31.

7. Cook JR, Goldman B, Tubbs RR, Rimsza L, Leblanc M, Stiff P, et al. Clinical Significance of MYC Expression and/or «High-grade» Morphology in Non-Burkitt, Diffuse Aggressive B-cell Lymphomas: A SWOG S9704 Correlative Study. Am J Surg Pathol. 2014 Apr;38(4):494-501.

8. Perry AM, Crockett D, Dave BJ, Althof P, Winkler L, Smith LM, et al. B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and burkitt lymphoma: study of 39 cases. Br J Haematol. 2013 Apr.

9. Parker A BB, Devereux S, Gatter K, Jack A, Matutes E, Rooney N, Ross F, Wilkins B, Wotherspoon A, Ramsay A. Best Practice in Lymphoma Diagnosis and Reporting. 2012.

10. Pillai RK, Sathanoori M, Van Oss SB, Swerdlow SH. Double-hit B-cell lymphomas with BCL6 and MYC translocations are aggressive, frequently extranodal lymphomas distinct from BCL2 double-hit B-cell lymphomas. Am J Surg Pathol. 2013 Mar;37(3):323-32.

11. Haralambieva E, Boerma EJ, van Imhoff GW, Rosati S, Schuuring E, Müller-Hermelink HK, et al. Clinical, immunophenotypic, and genetic analysis of adult lymphomas with morphologic features of Burkitt lymphoma. Am J Surg Pathol. 2005 Aug;29(8):1086-94.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfomas B no Hodgkin: Linfomas B agresivos: Linfoma B de células del manto

**Santiago Montes Moreno**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IDIVAL, Santander*

## DEFINICIÓN

El linfoma de células del manto (LCM) es un linfoma B compuesto de células de tamaño mediano, monomorfo, con núcleos irregulares, que se caracteriza molecularmente por la traslocación de *CCND1*. El LCM supone del 3 al 10 % de los LNH y suele afectar a pacientes de edad media-avanzada. La afectación ganglionar es la presentación más habitual. La localización extraganglionar más frecuente es el tracto aerodigestivo (tracto gastrointestinal y anillo de Waldeyer).

Se han descrito variantes histopatológicas agresivas (LCM blastoide y pleomórfico) y otras de curso indolente, con variable presentación clínica, frecuente afectación leucémica y extraganglionar con esplenomegalia, hipermutación somática de IgVH y expresión disminuida de SOX11.

Igualmente existe un subgrupo de casos, clínicamente equivalentes a LCM clásico, que carecen de la traslocación de CCDN1 y presentan traslocaciones en CCDN2. El LCM in situ es una forma muy inhabitual de linfocitosis ganglionar de fenotipo LCM con t(11;14) restringida a la capa interna de la zona del manto. Su incidencia es <1 % en ganglios linfáticos sin sospecha clínica de linfoproliferativo y su riesgo de transformación a LCM establecido muy limitado.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

**Biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto:** Es el método de elección.

**Punción biopsia con aguja gruesa (BAG):** Es la aproximación a utilizar en caso de que no se pueda realizar una biopsia incisional/escisional por la situación clínica del paciente. Véase capítulo *Obtención de las muestras para diagnóstico hematopatológico*.

## TIPO DE ESTUDIOS HISTOPATOLÓGICOS REQUERIDOS PARA LA ESTADIFICACIÓN

**Biopsia-cilindro de médula ósea:** Es el método de elección para la estadificación de todos los casos de LCM. El examen morfológico del aspirado no es suficiente para el diagnóstico en estos casos y se requiere una biopsia cilindro y estudios inmunofenotípicos y de citogenética/FISH (estos últimos en caso de que se demuestre infiltración por citometría de flujo-morfología).

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

Los casos de LCM clásico plantean el diagnóstico diferencial histopatológico con otras formas de Linfoma B como Linfoma B folicular de bajo grado, Linfoma B de la zona marginal y leucemia linfocítica crónica B/Linfoma linfocítico de linfocitos B pequeños. Las formas de linfoma del manto blastoide plantean el diagnóstico diferencial con Linfoma de Burkitt, Linfoma B Difuso de células grandes, linfoma B de alto grado y linfoma B linfoblástico. El linfoma del manto pleomórfico plantea el diagnóstico diferencial con Linfoma B folicular y Linfoma B difuso de células grandes. Existe un subgrupo (<5 %) de LBDCG que muestran sobreexpresión de CCDN1 no asociada con traslocación del gen.

## PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ) E HIBRIDACIÓN IN SITU CROMOGÉNICA (HIS-C)

El LCM clásico se caracteriza por la expresión de CD20, CD5, CD43, BCL2 y CICLINAD1. No se suele observar expresión de CD23 (<10 %). Habitualmente se observa restricción de cadenas ligeras λ. Se pueden observar fenotipos anómalos con expresión de CD10 y BCL6, especialmente en las formas agresivas (p. ej. manto pleomórfico), así como negatividad para CD5.

La detección de la expresión de SOX11 mediante IHQ es de utilidad en las formas de LCM ciclinaD1 negativos y en el diagnóstico diferencial con LZM y otros linfomas de célula pequeña. En estos casos se suele encontrar sobreexpresión de CCDN2 así como negatividad para p27.

Los estudios de perfil de expresión génica identifican la firma molecular de proliferación como un marcador pronóstico significativo. El índice proliferativo cuantificado con Ki67 es un marcador surrogado de esta firma y tiene valor pronóstico en LCM, al igual que el recuento mitótico. La sobreexpresión intensa de *TP53* también se ha visto asociada a pronóstico clínico desfavorable por su asociación con inactivación subyacente de *TP53* por mecanismos genéticos. Existen guías de recomendación acerca de los métodos de cuantificación apropiados para Ki67 y p53.

**Panel de primera línea IHQ:** CD45 (ALC), CD20, CD3, CD5, CD23, Ki-67, CICLINAD1, p53.

**Panel de segunda línea IHQ:** SOX11, p27, CCDN2.

## CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

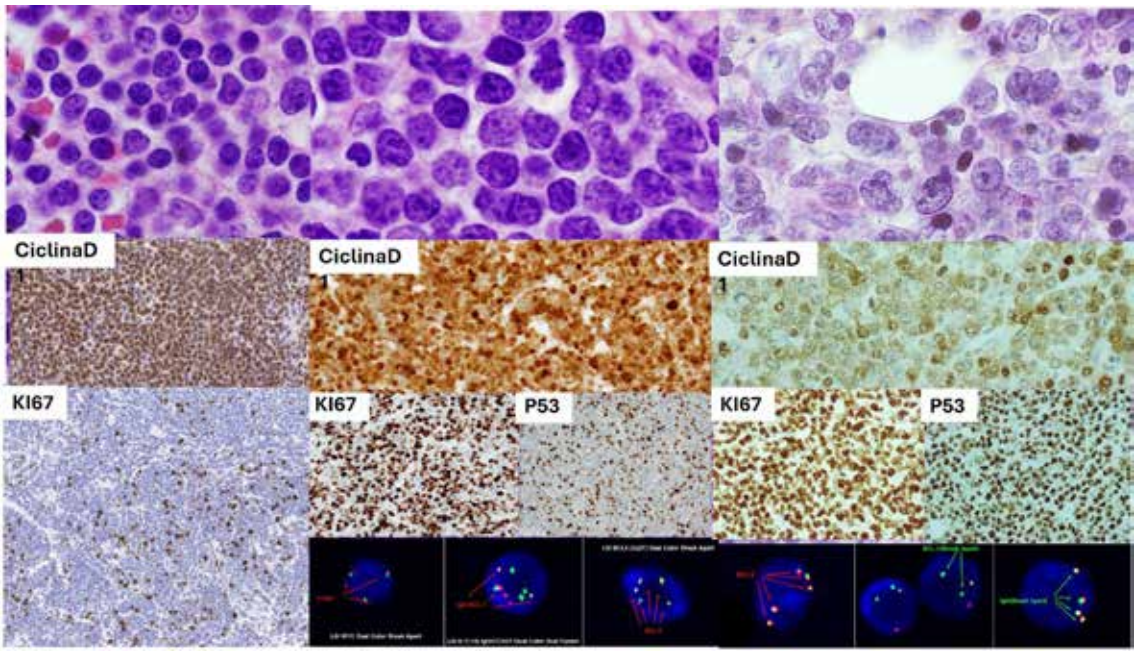
La detección de reordenamientos de CCDN1 mediante FISH con sondas de tipo BA es de elección para el diagnóstico de LCM. Habitualmente la positividad mediante IHQ con el anticuerpo contra CCDN1 hace innecesaria la confirmación mediante FISH. Una indicación de FISH son los casos con tinción heterogénea y de intensidad variable para CCDN1 ya que cerca del 2 % de LBDCG pueden sobreexpresar CCDN1, sin asociar traslocación del gen. Los casos de LCM CCDN1 negativos pueden presentar reordenamientos de CCDN2 que es recomendable pero no necesario identificar para el diagnóstico si el perfil IHQ es concordante con LCM (CD20+CD5+SOX11+, p27-, CCND2+).

El estudio del cariotipo en muestras estimuladas con TPA 72 horas no es necesario en el proceso diagnóstico habitual, pero sí recomendable, ya que permite detectar anomalías asociadas, algunas de las cuales se asocian a un pronóstico desfavorable (cariotipos complejos y/o tetraploides, traslocaciones de MYC, deleciones de 17p, 13q33 entre otras y/o ganancias de 3q26, etc). Estas anomalías también pueden ser detectadas mediante FISH y/o *arrays* (CGH o SNPs), si bien no existen recomendaciones clínicas establecidas en este sentido.

**RECOMENDACIONES**

1. Panel de primera línea IHQ: CD45 (ALC), CD20, CD3, CD5, CD23, Ki-67, CICLINA D1, p53. (Grado C, nivel de evidencia IV). Es recomendable expresar en el informe anatomopatológico la variante morfológica y el resultado de la cuantificación de Ki67 y p53.
2. Panel de segunda línea IHQ: SOX11, p27, CCDN2. (Grado C, nivel de evidencia IV).
3. La detección de la expresión de SOX11 mediante IHQ es necesaria en las formas de LCM ciclina D1 negativos. (Grado C, nivel de evidencia IV).
4. La detección de reordenamientos de CCDN1 mediante FISH con sondas de tipo BA es el método de elección complementario al diagnóstico de LCM.
5. Una indicación de FISH para detectar traslocación de CCDN1 son los casos con tinción heterogénea y de intensidad variable para CCDN1. La expresión uniforme e intensa mediante IHQ de CICLINA D1 es suficiente para el diagnóstico en los casos de LCM típico (Grado C, nivel de evidencia IV).
6. Los casos de LCM CCDN1 negativos presentan traslocaciones de CCDN2 que es recomendable pero no necesario identificar para el diagnóstico si el perfil IHQ es concordante con LCM (CD20+CD5+SOX11+, p27-CCND2+). (Grado C, nivel de evidencia IV).
7. El análisis de cariotipo no es necesario pero sí recomendable en el proceso diagnóstico habitual del LCM. (Grado C, nivel de evidencia IV).
8. No es necesario realizar la tinción de CCDN1 en los casos con patrón histopatológico de hiperplasia linfoide reactiva sin sospecha clínica de proceso linfoproliferativo. (Grado C, nivel de evidencia IV).

**Figura 1.** Imágenes de casos de linfoma B de células del manto. En la primera columna se muestra un caso de LCM de morfología clásica son sobreexpresión de *CCND1* y un Ki67 <30 %. En la segunda columna se observa un caso de morfología blastoide. El estudio IHQ mostro sobreexpresiond e *CCND1*, Ki67>30 % y sobreexpresión de p53- En la tercera columna se observa un csao de morfología pleomórfica, que presenta sobreexpresión de *CCND1*, Ki67>30 % y sobreexpresión de p53 (>50 %). Este caso presentaba reordenamiento de *CCND1* mediante FISH.



**Bibliografía**


1. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leukemia. 2022;36(7):1720-1748.
2. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. Blood. 2022;140(11):1229-1253.
3. Navarro A, Clot G, Royo C, Jares P, Hadzidimitriou A, Agathangelidis A, et al. Molecular subsets of mantle cell lymphoma defined by the IGHV mutational status and SOX11 expression have distinct biologic and clinical features. Cancer Res. 2012 Oct 15;72(20):5307-16.
4. Fernandez V, Salamero O, Espinet B, Sole F, Royo C, Navarro A, et al. Genomic and gene expression profiling defines indolent forms of mantle cell lymphoma. Cancer Res. 2010 Feb 15;70(4):1408-18.
5. Ondrejka SL, Lai R, Smith SD, Hsi ED. Indolent mantle cell leukemia: a clinicopathological variant characterized by isolated lymphocytosis, interstitial bone marrow involvement, κ light chain restriction, and good prognosis. Haematologica. 2011 Aug;96(8):1121-7.
6. Salaverria I, Royo C, Carvajal-Cuenca A, Clot G, Navarro A, Valera A, et al. CCND2 rearrangements are the most frequent genetic events in cyclin D1(-) mantle cell lymphoma. Blood. 2013 Feb 21;121(8):1394-402.
7. Carvajal-Cuenca A, Sua LF, Silva NM, Pittaluga S, Royo C, Song JY, et al. In situ mantle cell lymphoma: clinical implications of an incidental finding with indolent clinical behavior. Haematologica. 2011 Nov.
8. Bermudez G, González de Villambrosía S, Martínez-López A, Batlle A, Revert-Arce JB, Cereceda Company L, et al. Incidental and Isolated Follicular Lymphoma In Situ and Mantle Cell Lymphoma In Situ Lack Clinical Significance. Am J Surg Pathol. 2016 Mar.
9. Ok CY, Xu-Monette ZY, Tzankov A, O'Malley DP, Montes-Moreno S, Visco C, et al. Prevalence and clinical implications of cyclin D1 expression in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) treated with immunochemotherapy: A report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program. Cancer. 2014 Mar 19.
10. Quintanilla-Martinez L, Thieblemont C, Fend F, Kumar S, Pinyol M, Campo E, et al. Mantle cell lymphomas lack expression of p27Kip1, a cyclin-dependent kinase inhibitor. The American journal of pathology. 1998 Jul;153(1):175-82.
11. Fu K, Weisenburger DD, Greiner TC, Dave S, Wright G, Rosenwald A, et al. Cyclin D1-negative mantle cell lymphoma: a clinicopathologic study based on gene expression profiling. Blood. 2005 Dec 15;106(13):4315-21.
12. Rosenwald A, Wright G, Wiestner A, Chan WC, Connors JM, Campo E, et al. The proliferation gene expression signature is a quantitative integrator of oncogenic events that predicts survival in mantle cell lymphoma. Cancer Cell. 2003 Feb;3(2):185-97.
13. Katzenberger T, Petzoldt C, Holler S, Mader U, Kalla J, Adam P, et al. The Ki67 proliferation index is a quantitative indicator of clinical risk in mantle cell lymphoma. Blood. 2006 Apr 15;107(8):3407.
14. Tiemann M, Schrader C, Klapper W, Dreyling MH, Campo E, Norton A, et al. Histopathology, cell proliferation indices and clinical outcome in 304 patients with mantle cell lymphoma (MCL): a clinicopathological study from the European MCL Network. Br J Haematol. 2005 Oct;131(1):29-38.

15. Croci GA, Hoster E, Beà S, Clot G, Enjuanes A, Scott DW, Cabeçadas J, Veloza L, Campo E, Clasen-Linde E, Goswami RS, Helgeland L, Pileri S, Rymkiewicz G, Reinke S, Dreyling M, Klapper W. Reproducibility of histologic prognostic parameters for mantle cell lymphoma: cytology, Ki67, p53 and SOX11. Virchows Arch. 2020 Aug;477(2):259-267. doi: 10.1007/s00428-020-02750-7. Epub 2020 Jan 23. PMID: 31975037; PMCID: PMC7415076.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfomas B no Hodgkin: Mieloma de células plasmáticas/Mieloma múltiple

**Santiago Montes Moreno**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IDIVAL, Santander*

## DEFINICIÓN

Las neoplasias de células plasmáticas derivan de la expansión de un clon de células terminalmente diferenciadas, que han realizado el cambio de clase (de IgM/IgD a IgG, o IgA y más raramente IgE) o switching, y (usualmente) secretan inmunoglobulina monoclonal (paraproteína o componente M). Se discute aquí el diagnóstico histopatológico de la gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI), mieloma múltiple y plasmocitoma óseo y extraóseo. El diagnóstico definitivo de estas entidades descansa en la combinación de los hallazgos histopatológicos con los hallazgos clínicos y de laboratorio (paraproteína sérica, anemia, lesiones líticas, daño renal, hipercalcemia). En ausencia de estos datos, y en caso de infiltración significativa de la medula ósea por plasmáticas clonales (≥10 %) se suele tratar de mieloma multiple asintomatico (smouldering). Es critica la valoración de la infiltración de la medula ósea en el aspirado y en la biopsia cilíndrica del hueso ya que existe un subrgrupo de casos en los que la biopsia ósea aporta mayor rentabilidad diagnostica.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

**Aspirado de MO:** Es un método habitual para el diagnóstico de GMSI/mieloma múltiple, que exige tanto la presencia de infiltrado por células plasmáticas como su clonalidad(1).

**Biopsia-cilindro de médula ósea:** Es un método habitual en el diagnóstico y complementario en el seguimiento de los pacientes con GMSI/mieloma múltiple.

El examen morfológico del aspirado puede ser suficiente para el diagnóstico de las neoplasias de células plasmáticas si se acompaña de los datos clínicos, inmunofenotípicos (IHQ, CMF), citogenéticos o moleculares necesarios. No obstante, el estudio de la biopsia de MO con inmunohistoquímica permite aumentar la sensibilidad y precisión en la estimación de la infiltración por células plasmáticas, y se sigue recomendando (1-6).

La infiltración plasmocitaria de la médula ósea se basará en el examen convencional tanto del aspirado como de la biopsia de médula ósea. Si al enumerar las células plasmáticas hay una discrepancia entre la estimación del aspirado y la de la biopsia, se deberá utilizar el número más elevado que se obtenga(1, 6).

**Biopsia escisional/incisional del tejido extramedular afectado:** Es el método de elección y debe de ser el método utilizado siempre en los casos de lesiones (plasmocitomas) accesibles.

**Punción biopsia con aguja gruesa (BAG):** Es la alternativa que se utilizaría en caso de que no se pueda realizar una biopsia incisional/escisional. Véase capítulo *Obtención de las muestras para diagnóstico hematopatológico*.

Si se utiliza sólo punción aspiración con aguja (fina o gruesa), es obligado el empleo de técnicas complementarias como Inmunohistoquímica, Citometría de Flujo, Hibridación In Situ o Biología Molecular.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

El primer diagnóstico diferencial a valorar en los casos de biopsia de MO en paciente con sospecha de discrasia de células plasmáticas es la distinción entre plasmocitosis reactiva, GMSI y mieloma. El segundo diagnóstico diferencial a plantear es con linfoma B linfoplasmacítico/macroglobulinemia de Waldenström si existe una población mixta, linfoide y plasmocelular.

Las células plasmáticas en la MO normal se disponen de localización perivascular, aisladas o en pequeños grupos, sin reacción estromal y sin mostrar inmunofenotipos aberrantes, restricción de cadenas ligeras o anomalías citogenéticas o moleculares. Los casos de gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI) muestran un incremento significativo de la cantidad de plasmáticas en el tejido, de localización intersticial, con evidente restricción de cadenas ligeras mediante IHQ/CMF. Si se utilizan técnicas de citometría de flujo es posible distinguir células con fenotipo aberrante e incluso con anomalías genéticas, incluyendo traslocaciones cromosómicas. En estos casos se pueden observar pequeños grupos (<5 células MUM1/CD138 positivas) de plasmáticas intersticiales, sin formar grandes grupos, sábanas o distorsión arquitectural con reacción estromal. El aspirado de las MO con GMSI no muestra más de un 10 % de células plasmáticas clonales y el componente M es inferior a 30 g/L. Además, desde el punto de vista clínico, el diagnóstico de GMSI exige la ausencia de repercusiones fisiopatológicas (ausencia de anemia, lesión ósea, lesión renal o hipercalcemia debidas a la presencia del clon de células plasmáticas anómalas).

En el caso del mieloma múltiple (quiescente o sintomático) la biopsia de MO puede mostrar un infiltrado de grupos densos (>5 células monotípicas MUM1+/CD138+), con distorsión arquitectural y atipia celular (plasmáticas atípicas, con inclusiones nucleares y otras alteraciones morfológicas). El patrón del infiltrado puede ser intersticial parcheado. En casos con mayor grado de infiltración (>60 %) se pueden observar nódulos intersticiales densos o patrón difuso. El estudio IHQ y de CMF es necesario para demostrar infiltrados mielomatosos ocultos.

En ocasiones, particularmente en el contexto post-terapia, el porcentaje de células plasmáticas atípicas es inferior al 10 % en el aspirado y la infiltración tisular sutil. En estos casos es necesaria la presencia del resto de criterios clínicos para el diagnóstico de mieloma múltiple (componente monoclonal >30 g/L y ausencia de consecuencias fisiopatológicas –criterios CRAB- para el mieloma quiescente, o cualquier componente si hay alguna de las consecuencias fisiopatológicas para el mieloma sintomático).

El espectro morfológico de los casos de mieloma es amplio con formas con atipia mínima y otras de aspecto linfoplasmocitoide, plasmablástico o anaplásico. La atipia morfológica puede ser el único dato si el infiltrado es sutil. En estos casos es esencial el estudio IHQ y de CMF.

Hay que considerar el diagnóstico diferencial con metástasis de neoplasias no hematológicas en los casos de morfología anaplásica o con linfomas B no Hodgkin de alto grado en los casos de morfología inmunoblástica/plasmablástica, aunque en estos casos la ausencia del componente monoclonal ayuda mucho en la diferenciación.

En casos de plasmocitoma extramedular (por ejemplo de localización en tracto digestivo) también hay que plantear el diagnóstico diferencial con linfomas B de bajo grado con diferenciación plasmocítica (linfoma B de la zona marginal).

## PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ) E HIBRIDACIÓN IN SITU CROMOGÉNICA (HIS-C) [6-9]

**Panel de primera línea IHQ:** MUM1, CD138, CD56, κ, λ.

**Panel de primera línea CMF:** CD45, CD19, CD138, CD38, β-2-microglobulina, CD56, CIg-κ, CIg-λ.

La ratio normal de expresión de cadenas ligeras en células plasmáticas es de 2-4 células κ por cada célula λ. Una ratio de 8 o más células κ es concordante con monotipia κ. Inversamente una ratio de 4 o más células λ por cada célula κ es un marcador indirecto de monoclonalidad λ. Mediante citometría de flujo estos números varían, ya que es posible distinguir pequeños números de células plasmáticas aberrantes. Si se encuentran estas células y el porcentaje de aberrantes respecto al de plasmáticas totales no supera el 95 %, estaremos muy probablemente ante una GMSI, mientras que en el caso del mieloma ese porcentaje se supera (habitualmente es >99 %).

**Panel de segunda línea IHQ:** CD38, VS38, HIS para κ y λ, ciclina D1, MYC, IgM, IgG, IgD, IgA, IgE.

**Panel de segunda línea CMF:** CD27, CD28, CD81 y CD117.

## CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

No son esenciales para el diagnóstico. No obstante, la evidencia disponible demuestra un claro valor pronóstico de las alteraciones genéticas evaluadas mediante cariotipo y/o FISH en los casos de mieloma múltiple. Excepcionalmente, cuando la demostración de clonalidad no se ha podido hacer en suero o en orina, y en el tejido ha fallado la IHQ y la CMF, el estudio molecular (presencia de monoclonalidad) o la FISH (presencia de anomalías cromosómicas) puede descartar la existencia de cuadros reactivos.

## RECOMENDACIONES

1. En caso de sospecha de neoplasia de células plasmáticas se debe hacer un aspirado y biopsia de médula ósea. El estudio de CMF y citogenética es conveniente. Si con los datos del aspirado y biopsia, junto a los datos clínico-biológicos no se llega a un diagnóstico definitivo, se deben añadir técnicas moleculares. (Grado C, nivel de evidencia IV).

2. En la biopsia de MO, realizar siempre un estudio IHQ con panel de primera línea. (Grado C, nivel de evidencia IV).

3. En casos de infiltración medular significativa por plasmáticas clonales, en ausencia del resto de datos clínicos para el diagnóstico de mieloma múltiple, hay que plantear un diagnóstico genérico de neoplasia de células plasmáticas proporcionando el porcentaje y patrón de infiltración para permitir diferenciar entre GMSI (<10 %) y MM quiescente (>10 %, plasmáticas clonales, patrón en clusters) (Grado C, nivel de evidencia IV).

4. En casos de morfología plasmablástica o anaplásica, valorar el diagnóstico diferencial con infiltración por LNH y metástasis de proceso no hematológico respectivamente.

5. En casos de morfología linfoplasmocitoide o mixta linfoide y plasmocelular, valorar el diagnóstico diferencial con linfoma B linfoplasmacítico y otros linfomas B indolentes.

6. Valorar el diagnóstico diferencial con linfomas de célula B en casos de plasmocitoma extraóseo.

**Bibliografía**


1. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. Lancet Oncol. 2014 Nov;15(12):e538-e48.
2. Joshi R, Horncastle D, Elderfield K, Lampert I, Rahemtulla A, Naresh KN. Bone marrow trephine combined with immunohistochemistry is superior to bone marrow aspirate in follow-up of myeloma patients. J Clin Pathol. 2008 Feb;61(2):213-6.
3. Stifter S, Babarovic E, Valkovic T, Seili-Bekafigo I, Stemberger C, Nacinovic A, et al. Combined evaluation of bone marrow aspirate and biopsy is superior in the prognosis of multiple myeloma. Diagnostic pathology. 2010;5:30.
4. NCCN. Multiple Myeloma.
5. Al-Quran SZ, Yang L, Magill JM, Braylan RC, Douglas-Nikitin VK. Assessment of bone marrow plasma cell infiltrates in multiple myeloma: the added value of CD138 immunohistochemistry. Hum Pathol. 2007 Dec;38(12):1779-87.
6. Gea A, et al. Is Bone Marrow Trephine Biopsy Necessary in Multiple Myeloma Patients at Diagnosis?. Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2024 Dec 7:S2152-2650(24)02440-6. doi: 10.1016/j.clml.2024.12.004.
7. Cao W, Goolsby CL, Nelson BP, Singhal S, Mehta J, Peterson LC. Instability of immunophenotype in plasma cell myeloma. Am J Clin Pathol. 2008 Jun;129(6):926-33.
8. Parker A BB, Devereux S, Gatter K, Jack A, Matutes E, Rooney N, Ross F, Wilkins B, Wotherspoon A, Ramsay A. Best Practice in Lymphoma Diagnosis and Reporting. 2012.
9. Rawstron AC, Orfao A, Beksac M, Bezdickova L, Brooimans RA, Bumbea H, et al. Report of the European Myeloma Network on multiparametric flow cytometry in multiple myeloma and related disorders. Haematologica. 2008 Mar;93(3):431-8.
10. Mateo G, Castellanos M, Rasillo A, Gutierrez NC, Montalban MA, Martin ML, et al. Genetic abnormalities and patterns of antigenic expression in multiple myeloma. Clin Cancer Res. 2005 May 15;11(10):3661-7.
11. Fonseca R, Bergsagel PL, Drach J, Shaughnessy J, Gutierrez N, Stewart AK, et al. International Myeloma Working Group molecular classification of multiple myeloma: spotlight review. Leukemia. 2009 Dec;23(12):2210-21.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfoma de Hodgkin y linfoma de la zona gris

**Juan Fernando García**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital MD Anderson, Madrid*

## LINFOMAS DE HODGKIN

El linfoma de Hodgkin (LH) es una neoplasia clonal, en la mayoría de los casos derivada de células linfoides B, caracterizada por la presencia de muy escasas células neoplásicas acompañadas de un abundante microambiente celular de características inflamatorias. Clásicamente se han reconocido dos entidades clinicopatológicas diferenciadas: el LH de tipo predominio linfocítico nodular (LHPLN) y el LH clásico (LHc), aunque las nuevas clasificaciones OMS/ICC 2022 recomiendan la reclasificación del LHPLN entre linfomas B no Hodgkin (linfoma B de predominio linfocítico nodular). El LH constituye el 25-30 % de todos los linfomas, siendo mucho más frecuente las formas de LHc (95 %) que las formas de LHPLN (5 %).

El LH constituye el 25-30 % de todos los linfomas, siendo mucho más frecuente las formas de LHc (95 %) que las formas de LHPLN (5 %).

El LHPLN es una neoplasia clonal derivada de células linfoides B, caracterizada por la presencia de las células de PL ó L&H (variantes linfocítica-histiocítica), con expresión conservada de marcadores fenotípicos B (CD20, CD79a, BCL6, PAX5, OCT2) y EMA, acompañadas de grandes agregados de linfocitos B maduros e histiocitos, en un patrón de crecimiento nodular o nodular y difuso, y característicamente rodeadas de linfocitos T con fenotipo TFH (PD1+). Se han descrito 6 patrones inmunoarquitecturales con relevancia clínica-pronóstica [1]. 75 % de los casos muestran patrones nodulares típicos ricos en células B (patrones A-B) y 25 % de casos muestran «patrones variantes» (C-F), que reflejan una transición con el linfoma B rico en células T e histiocitos. Por sus características fenotípicas y biológicas, con un programa transcripcional de diferenciación B establecido, se reconoce que la terminología más adecuada para esta entidad sería linfoma B de predominio linfocítico (nodular). Este tumor no está asociado a infección por virus de Epstein-Barr (VEB) en la gran mayoría de los casos.

El LHc se define por la presencia de las características células de Hodgkin y de Reed-Sternberg (HRS), con expresión de CD30 y CD15 y con expresión ausente o defectiva de marcadores fenotípicos B en la mayoría de casos (CD20-/+, CD79a-, OCT2-/+), acompañadas de un fondo reactivo rico en linfocitos T, histiocitos, eosinófilos, neutrófilos, células plasmáticas, etc. [2]. El patrón de crecimiento puede ser nodular o difuso. La composición del microambiente reactivo y la presencia de esclerosis define los subtipos histológicos: LHc rico en linfocitos (LHCRL), esclerosis nodular (EN), celularidad mixta (CM), y depleción linfocitaria (DL). El LHc está asociado a infección por VEB en un porcentaje variable de casos (30-70 %), con un programa de latencia tipo II que incluye la expresión de EBERs, EBNA1, LMP1 y LMP2A [9].

## LINFOMA MEDIASTÍNICO DE LA ZONA GRIS

Entidad definida por la presencia de rasgos morfológicos y fenotípicos intermedios o superponibles entre LHc y LBDCG, habitualmente linfoma B difuso primario mediastínico; los casos muestran hipercelularidad, presencia de típicas células HRS, CD30+, CD15 variable, muy numerosas y con patrones difuso o nodular y expresión intensa de marcadores de línea B (CD20, CD79a, PAX5, OCT2, CD19). Se acepta la expresión débil o ausencia de expresión de algún marcador B (p. ej. CD20) si al menos marcadores B son positivos de forma intensa. EBV es negativo en estos casos.

La mayoría de los casos se presentan en el mediastino en varones jóvenes. Son tumores agresivos con incidencia de recaída mayor que en cada una de las entidades «pures». Aunque aún deben definirse estrategias óptimas de tratamiento, los datos actuales sugieren que terapia agresiva tipo linfoma B primario mediastínico (EPOCH, DA-EPOCH) asociado a Rituximab puede obtener una alta tasa de remisiones.

Linfomas compuestos y linfomas secuenciales (HLc en una biopsia y linfoma B difuso primario mediastínico en la recaída, o viceversa) son fenómenos relacionados con esta entidad. Se excluye de este concepto tumores agresivos resultado de la transformación de linfomas de bajo grado, así como la presencia de células tipo RS en otros tipos de linfomas B y T reconocibles. Es relevante tener en cuenta su relativa infrecuencia al establecer el diagnóstico diferencial con linfoma de Hodgkin esclerosis nodular, linfoma B de célula grande, linfoma B de tipo predominio linfocítico y linfoma B de célula grande EBV+. En las actuales clasificaciones OMS/ICC no se recomienda esta terminología en formas de localización extramediastínica, que deberían ser clasificados como linfoma B difuso de células grandes, NOS.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

**Biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto:** Es el método de elección.

**Punción biopsia con aguja gruesa (BAG):** se puede utilizar en caso de que no se pueda realizar una biopsia incisional/escisional por la situación clínica del paciente. Véase capítulo *Obtención de las muestras para diagnóstico hematopatológico*. No se recomienda establecer el diagnóstico de LHc en localización extranodal excepto en situaciones de recaída en pacientes con diagnóstico previo en biopsia ganglionar.

**Biopsia-cilindro de médula ósea:** Es el método de elección imprescindible para la estadificación de todos los casos de LH. El examen morfológico del aspirado no es suficiente para el diagnóstico en estos casos y se requiere una biopsia cilindro.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

Los casos de LHPLN plantean diagnóstico diferencial histopatológico con LHc y con linfomas B difusos de células grandes (LBDCG), en particular las formas de Linfoma B rico en células T e histiocitos, así como procesos reactivos (en particular hiperplasia folicular reactiva con transformación progresiva de centros germinales). Las nuevas clasificaciones OMS/ICC 2022 recomiendan la reclasificación del LHPLN como linfoma B de predominio linfocítico nodular.

Los casos de LHc plantean diagnóstico diferencial histopatológico con una amplia variedad de procesos neoplásicos no linfoides y linfoides, así como procesos reactivos. Es particularmente trascendente la diferenciación con linfomas B difusos de células grandes (LBDCG), en particular las formas de Linfoma B rico en células T e histiocitos, y con Linfomas de células T (linfoma T periférico, linfoma T angioinmunoblástico y linfoma anaplásico ALK+).

En el diagnóstico inicial debe incluir un estudio morfológico adecuado con hematoxilina–eosina (HE). El diagnóstico se establece por la presencia de las células de HRS y sus variantes, en el apropiado contexto celular reactivo. El panel inmunofenotípico básico debe incluir marcadores de línea linfoide (CD45), línea B (CD20, CD79a) y línea T (CD3), además de CD30 y CD15. Adicionalmente, en el diagnóstico diferencial se debe tener en cuenta:

- LHPLN: morfología característica y expresión normal de marcadores de línea B; puede ser complementado con PAX5 y OCT2; la celularidad acompañante son linfocitos B maduros IgD+, formando nódulos (al menos focalmente). Se distinguen varios patrones morfológicos con impacto pronóstico [1].
- LHc: morfología característica y presencia de células de HRS típicas en todas las formas de la enfermedad; expresión de CD30 (en virtualmente todos los casos) y CD15 (75 %); expresión defectiva de CD45, CD20, CD79a; las células de HRS expresan PAX5 y OCT2; la celularidad acompañante es variada según subtipos histológicos:
    - LHCRL: imagen semejante a LHPLN, con nódulos de linfocitos B maduros, pero con células neoplásicas de HRS en lugar de células L&H.
    - LHc subtipo EN: nódulos neoplásicos rodeados de esclerosis con abundantes linfocitos T, histiocitos y eosinófilos; variantes «lacunares» de células de HRS.
    - LHc subtipo CM: patrón difuso o nodular; puede haber fibrosis intersticial fina; fondo celular muy heterogéneo, con abundantes histiocitos (incluso granulomas), células plasmáticas y eosinófilos; variantes «momificadas» de células de HRS.
    - LHc subtipo DL: predominio de abundantes células tumorales, HRS y variantes mononucleares; escaso fondo reactivo con fibrosis intersticial.
- Linfoma mediastínico de la zona gris: se define por la presencia de rasgos morfológicos y fenotípicos intermedios o superponibles entre LHc y LBDCG, habitualmente linfoma B difuso primario mediastínico; presencia de típicas células HRS, CD30+, muy numerosas y con patrones difuso o nodular y expresión intensa de marcadores de línea B.
- LBDCG asociado a EBV y edad avanzada, granulomatosis linfomatoide y casos de desorden linfoproliferativo post-trasplante de tipo LH: pueden presentar rasgos morfológicos de LHc; es imprescindible la evaluación de EBV y considerar expresión normal de marcadores de línea B.
- En determinados casos, se debe considerar en el diagnóstico diferencial subtipos específicos de linfomas T.

Estos diagnósticos diferenciales deben tener en cuenta características clínicas de la enfermedad (localización de las lesiones) y del paciente (edad), rasgos morfológicos e inmunofenotípicos.

## PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ)

En los casos característicos y ante una presentación clínica típica, un adecuado estudio morfológico de la biopsia y un panel IHQ básico serán suficientes para el diagnóstico:

### Panel de primera línea:

- Linfoma de Hodgkin clásico: CD45 (ALC), CD20, CD79a, CD3, CD30, CD15, PAX5.
  Es necesario determinar la presencia de EBV mediante IHQ para EBV-LMP1 o hibridación in situ para EBERs.
- Linfoma B de tipo Predominio Linfocítico Nodular: CD20, OCT2, CD3, PD1, BCL2.

### Paneles de segunda línea:

- Ante sospecha de LBPLN y en casos conflictivos es recomendable el uso de EMA, IGD y otros marcadores de línea B como CD79 y BCL6.

- Existe evidencia de que la expresión incrementada de proteína BCL2 en casos de LHc, puede asociarse a falta de respuesta a terapia habitual (nivel de evidencia III).
- Ante el diagnóstico diferencial de subtipos específicos de linfomas T, se deben incluir marcadores fenotípicos dirigidos: CD4, CD8, PD1, ALK.
- Imprescindible si se sospecha LBDCG asociado a EBV y edad avanzada, granulomatosis linfomatoide y desorden linfoproliferativo post-trasplante: hibridación in situ para EBV-EBER.

## CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

En general, el análisis de clonalidad linfoide B (reordenamientos de IGH) mediante PCR y electroforesis capilar no es necesario para el diagnóstico de LHc.

En contadas ocasiones, en especial ante la expresión anormal de marcadores fenotípicos T, o dificultad en el diagnóstico diferencial con linfomas T, puede ser útil el análisis de clonalidad linfoide T (reordenamientos de TCR).

Los estudios citogenéticos y/o de cariotipo no están recomendados en el diagnóstico del LH.

## RECOMENDACIONES

1. Panel de primera línea Linfoma de Hodgkin clásico: CD45 (ALC), CD20, CD79α/b, CD3, PAX5, CD30, CD15, EBV-LMP1.

   Panel de primera línea Linfoma B de tipo Predominio Linfocitico Nodular: CD20, OCT2, CD3, PD1, BCL2. Grado C. Evidencia nivel IV.

2. Paneles de segunda línea: CD79α/b, BCL6, EMA, IGD, CD4, CD8, ALK, hibridación in situ para EBV-EBER. Grado C. Evidencia nivel IV.

3. Estudios de clonalidad linfoide B y T mediante PCR y electroforesis capilar en casos seleccionados. Grado C. Evidencia nivel IV.

4. Los estudios citogenéticos/cariotipo no están recomendados en el diagnóstico del LH. Grado C. Evidencia nivel IV.

**Figura 1.** Imagen representativa de una célula de tipo R-S en un microambiente celular reactivo.

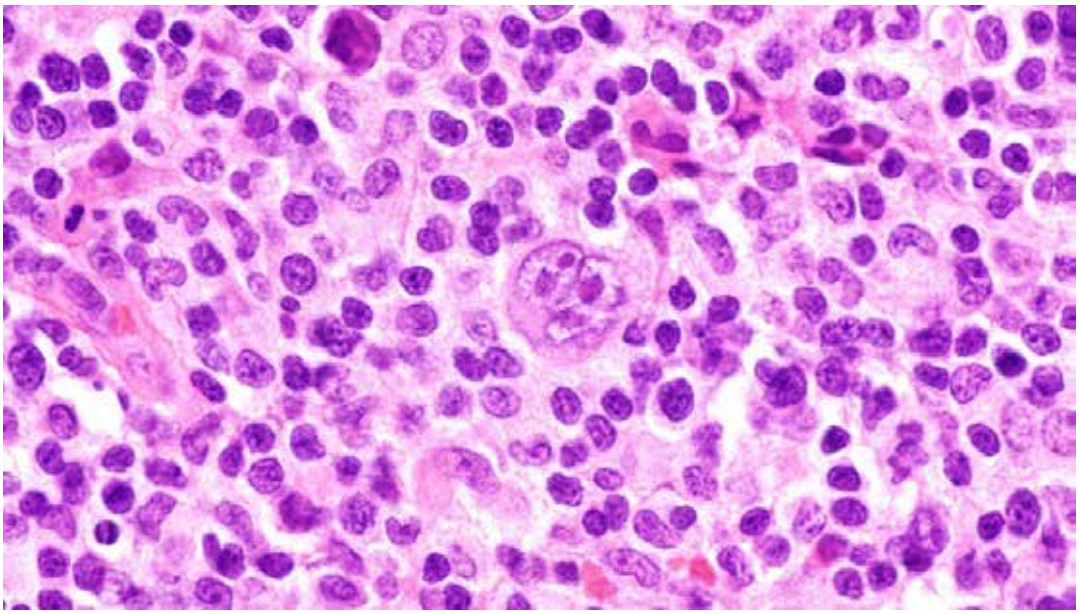


**Figura 2.** Imágenes representativas de un caso de linfoma de Hodgkin clásico, variante esclerosis nodular (mediastínico). Nótese en B la presencia de células lacunares.

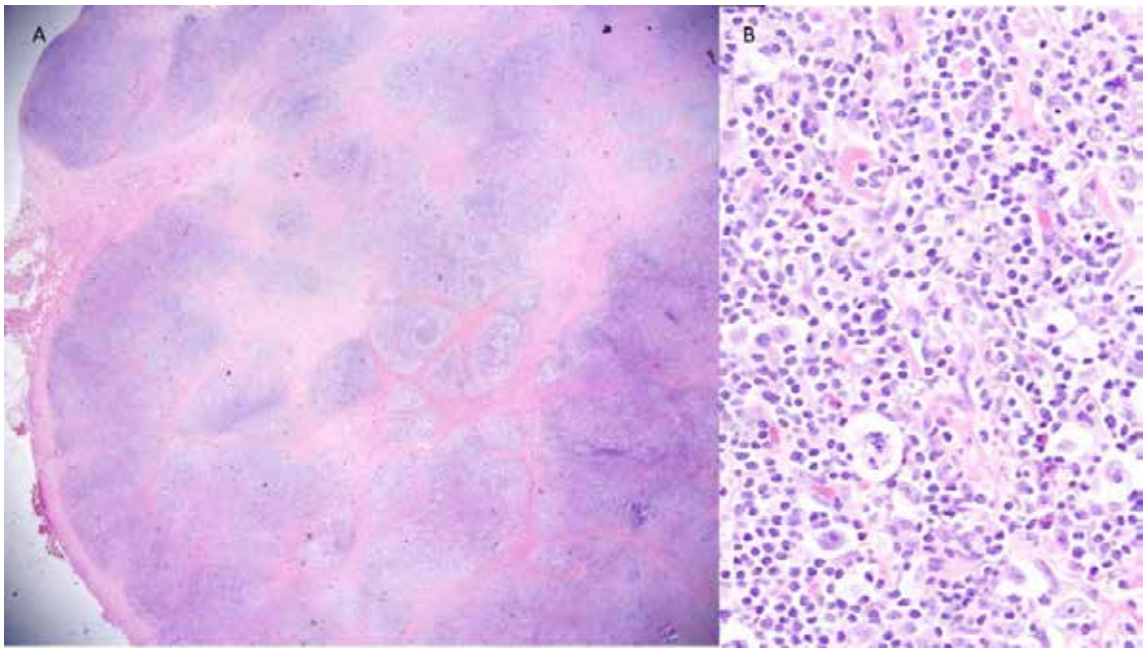
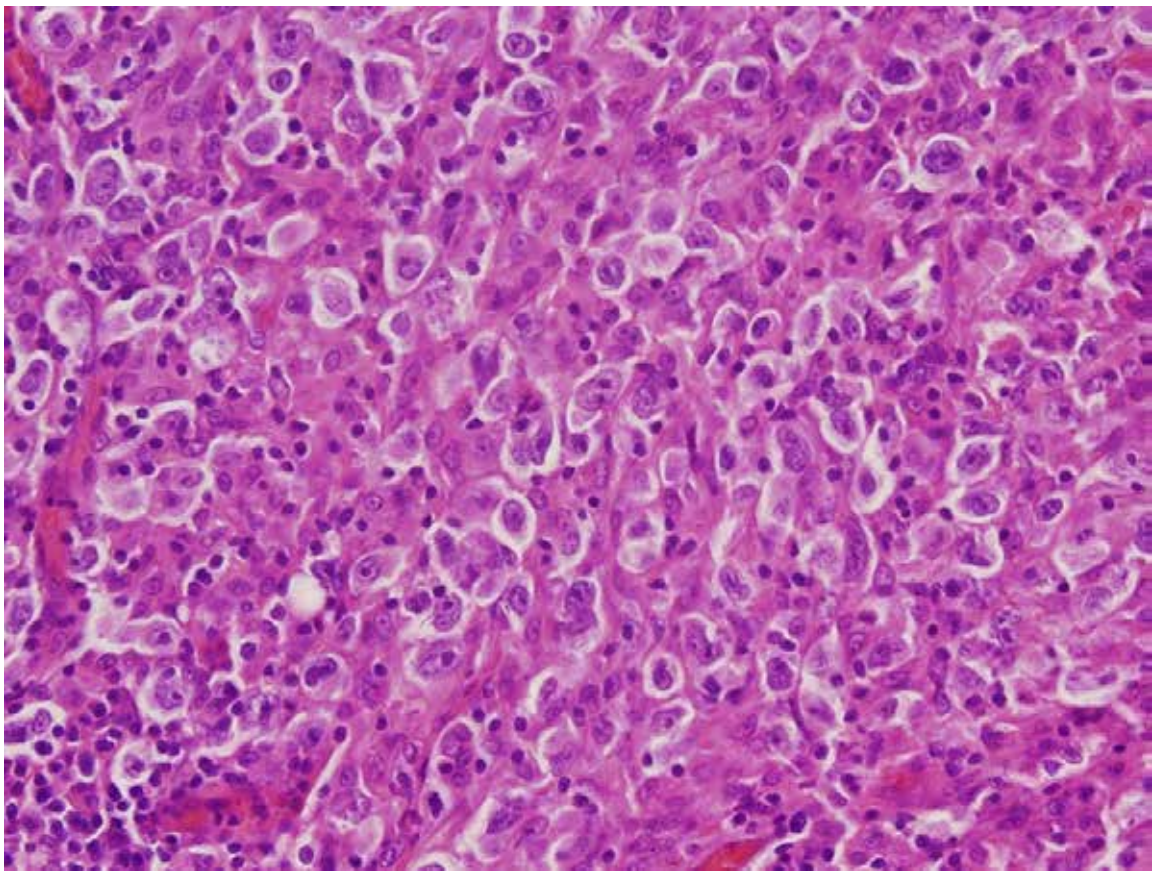



**Figura 3.** Imagen representativa de un caso de linfoma B de la zona gris mediatinico primario. Nótese la elevada densidad celular, patron de tipo LBDCG con delicada fibrosis pericelular. El caso fue negativo para EBV mediante CISH.



**Bibliografía**


1. Hummel M, Marafioti T, Stein H. Clonality of Reed-Sternberg cells in Hodgkin's disease. N Engl J Med. 1999;340(5):394-395.

2. Marafioti T, Hummel M, Foss HD, et al. Hodgkin and reed-sternberg cells represent an expansion of a single clone originating from a germinal center B-cell with functional immunoglobulin gene rearrangements but defective immunoglobulin transcription. Blood. 2000;95(4):1443-1450.

3. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leukemia. 2022;36(7):1720-1748.

4. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. Blood. 2022;140(11):1229-1253.

5. Anagnostopoulos I, Hansmann ML, Franssila K, et al. European Task Force on Lymphoma project on lymphocyte predominance Hodgkin disease: histologic and immunohistologic analysis of submitted cases reveals 2 types of Hodgkin disease with a nodular growth pattern and abundant lymphocytes. Blood. 2000;96(5):1889-1899.

6. Marafioti T, Hummel M, Anagnostopoulos I, et al. Origin of nodular lymphocyte-predominant Hodgkin's disease from a clonal expansion of highly mutated germinal-center B cells. N Engl J Med. 1997;337(7):453-458.

7. Mason DY, Banks PM, Chan J, et al. Nodular lymphocyte predominance Hodgkin's disease. A distinct clinicopathological entity. Am J Surg Pathol. 1994;18(5):526-530.

8. Fraga M, Sánchez-Verde L, Forteza J, García-Rivero A, Piris MA. T-cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma is a disseminated aggressive neoplasm: differential diagnosis from Hodgkin's lymphoma. Histopathology. 2002;41(3):216-229.

9. Nam-Cha SH, Roncador G, Sanchez-Verde L, et al. PD-1, a follicular T-cell marker useful for recognizing nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma. Am J Surg Pathol. 2008;32(8):1252-1257.

10. Khan G. Epstein-Barr virus, cytokines, and inflammation: a cocktail for the pathogenesis of Hodgkin's lymphoma? Exp Hematol. 2006;34(4):399-406.

11. Evens AM, Kanakry JA, Sehn LH, et al. Gray zone lymphoma with features intermediate between classical Hodgkin lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma: characteristics, outcomes, and prognostication among a large multicenter cohort. Am J Hematol. 2015;90(9):778-783.

12. Nam-Cha SH, Montes-Moreno S, Salcedo MT, Sanjuan J, Garcia JF, Piris MA. Lymphocyte-rich classical Hodgkin's lymphoma: distinctive tumor and microenvironment markers. Mod Pathol. 2009;22(8):1006-1015.

13. Garcia JF, Camacho FI, Morente M, et al. Hodgkin and Reed-Sternberg cells harbor alterations in the major tumor suppressor pathways and cell-cycle checkpoints: analyses using tissue microarrays. Blood. 2003;101(2):681-689.

14. Rassidakis GZ, Medeiros LJ, Vassilakopoulos TP, et al. BCL-2 expression in Hodgkin and Reed-Sternberg cells of classical Hodgkin disease predicts a poorer prognosis in patients treated with ABVD or equivalent regimens. Blood. 2002;100(12):3935-3941.

15. Langerak AW, Groenen PJ, Brüggemann M, et al. EuroClonality/BIOMED-2 guidelines for interpretation and reporting of Ig/TCR clonality testing in suspected lymphoproliferations. Leukemia. 2012;26(10):2159-2171.

16. Fan Z, Natkunam Y, Bair E, Tibshirani R, Warnke RA. Characterization of variant patterns of nodular lymphocyte predominant hodgkin lymphoma with immunohistologic and clinical correlation. Am J Surg Pathol. 2003 Oct;27(10):1346-56. doi: 10.1097/00000478-200310000-00007. PMID: 14508396.

17. Pilichowska M, Pittaluga S, Ferry JA, Hemminger J, Chang H, Kanakry JA, Sehn LH, Feldman T, Abramson JS, Kritharis A, Hernandez-Ilizaliturri FJ, Lossos IS, Press OW, Fenske TS, Friedberg JW, Vose JM, Blum KA, Jagadeesh D, Woda B, Gupta GK, Gascoyne RD, Jaffe ES, Evens AM. Clinicopathologic consensus study of gray zone lymphoma with features intermediate between DLBCL and classical HL. Blood Adv. 2017 Dec 11;1(26):2600-2609. doi: 10.1182/bloodadvances.2017009472. PMID: 29296913; PMCID: PMC5728632.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfomas T y T/NK: Leucemias/Linfomas linfoblásticos (T y B)

**Máximo Fraga**
*Servicio de Anatomía Patológica, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago, Santiago de Compostela*

## DEFINICIÓN

Se definen como neoplasias de células precursoras (linfoblastos) comprometidas hacia estirpe B o T. Como contrapartida normal se postulan células *stem* hematopoyéticas o células progenitoras B en el primer caso y células progenitoras T o linfocitos tímicos en el segundo.

Morfológicamente constan de células blásticas de pequeño o mediano tamaño, con citoplasmas escasos y núcleos irregulares o redondeados que generalmente muestran cromatina finamente punteada y nucleolo poco aparente.

Se trata de una enfermedad típica de la infancia: el 75 % de los pacientes tiene menos de 6 años. Se estima una incidencia mundial de entre 1-4,75 cada 100.000 personas/año.

La misma enfermedad puede presentarse como linfoma (lesión de tipo masa) o como leucemia (afectación de médula ósea y sangre periférica). Si coexisten ambos tipos de afectación, la denominación es puramente arbitraria, aunque en protocolos terapéuticos suele emplearse un umbral del 25 % de blastos para considerarlo leucemia. Entre los casos de fenotipo B, lo habitual es la presentación leucémica, mientras que las neoplasias precursoras T suelen ser linfomas con masa mediastínica.

La clasificación actual de la OMS (2022) las divide en:

- Linfoma/leucemia linfoblástica B (no específica)
- Linfoma/leucemia linfoblástica B con anomalías citogenéticas/alteraciones moleculares recurrentes
- Linfoma/leucemia linfoblástica T (no específica)

De acuerdo con ello, basta el estudio morfológico e inmunohistoquímico para establecer el diagnóstico de linfoma/leucemia linfoblástica (LLB) y distinguir entre LLB de fenotipo B (LLB-B) y fenotipo T (LLB-T). En cambio, se requerirán estudios citogenéticos y moleculares para saber si un caso de LLB-B presenta alteraciones cromosómicas o moleculares características que permitan subclasificarlo.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

**Biopsia de médula ósea:** La médula ósea se encuentra siempre infiltrada, por definición, en los casos leucémicos. La infiltración suele ser difusa en la presentación, pero en las recaídas puede ser focal. Salvo en casos de médula «empaquetada» o fibrosis reticulínica, el aspirado medular y/o la sangre periférica pueden aportar información muy valiosa para el diagnóstico, con el inmunofenotipo por citometría de flujo y los estudios citogenéticos.

**Biopsia escisional/incisional de adenopatía o tejido extraganglionar afecto:** Es el método de elección siempre que no exista afectación medular. En el linfoma LB-B, los tejidos más frecuentemente afectos son piel, tejidos blandos, hueso y ganglios linfáticos. En el linfoma LB-T suele haber una masa mediastínica anterior y, a menudo, adenopatías, aunque la presentación puede incluir también otras localizaciones.

**Punción-biopsia con aguja gruesa (BAG):** En casos sin afectación medular y en los que la biopsia escisional/incisional esté contraindicada por la localización de la lesión y/o la situación clínica del paciente.

**Punción-aspiración con aguja fina (PAAF):** No debe utilizarse para el diagnóstico inicial; su uso solo sería admisible, en ciertos casos, para el seguimiento de la enfermedad.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

El diagnóstico diferencial de LLB se debe realizar, en primer lugar, con otras proliferaciones de morfología de tipo blástico. En algunas ocasiones, determinadas características morfológicas que pueden aparecer, como imagen «en cielo estrellado» o una arquitectura multinodular («pseudofolicular»), pueden plantear también problemas con linfoma de Burkitt o linfoma folicular, respectivamente. También deben ser considerados tumores no hematolinfoides que presentan una morfología semejante.

En concreto, los diagnósticos diferenciales que se pueden plantear son:

- Leucemia mieloide aguda (LMA) y sarcoma mieloide (SM)
- Leucemia aguda de estirpe ambigua
- Neoplasia de célula dendrítica blástica plasmocitoide
- Linfoma del manto blastoide
- Linfoma de Burkitt
- Linfoma folicular
- Linfoma B difuso de células grandes
- Timo ectópico
- Timoma rico en linfocitos
- Tumores de células redondas y azules (sarcoma de Ewing, neuroblastoma, rabdomiosarcoma embrionario, meduloblastoma)
- Hematogonias (precursores normales de células B en médula ósea)

Con respecto a la diferenciación entre LLB-B, LLB-T y LMA/SM, una fuente de error pueden ser las positividades «aberrantes», es decir, la expresión de marcadores que son más propios de otras estirpes celulares que de la verdadera estirpe tumoral. Hay que recordar que LLB-T puede expresar antígenos B (p. ej. CD79a en un 10 % de casos), y viceversa. Los LLB -B y -T también pueden expresar algunos antígenos mieloides (CD13, CD15, CD33), así que esto no supone automáticamente un diagnóstico de LMA/SM o que se trate de una neoplasia bifenotípica. Para el diagnóstico de leucemia aguda de estirpe ambigua deben seguirse los criterios de la OMS.

## PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ)

**Panel de primera línea:** CD79a, PAX5, CD3, CD7, CD10, TdT, mieloperoxidasa.

**Paneles de segunda línea:**

- LLB-B: CD19, CD22, CD24, CD25, CD15, CD13, IgM.
- LLB-T: CD2, CD5, CD4, CD8, CD34, CD1a.

El panel de primera línea tiene como objetivo confirmar el diagnóstico de LLB y asignar la estirpe más probable con anticuerpos relativamente comunes. El segundo panel confirma la estirpe tumoral y ofrece información adicional para subclasificar la enfermedad en función de su grado de diferenciación, lo que parece tener trascendencia clínica; en el caso de LLB-B, algunos de los marcadores propuestos se relacionan con alteraciones citogenéticas recurrentes (v. siguiente apartado). Existe un pequeño porcentaje de casos de LLB y T que muestran expresión limitada o negatividad para TdT.

## CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

En la **LLB-B con anomalías citogenéticas recurrentes** se reconocen las siguientes alteraciones genéticas asociadas a una biología distintiva de la enfermedad:

- t(9;22)(q33;q11.2); BCR-ABL1 (fenotipo característico: expresión de CD19, CD10, CD25, CD13 y CD33): adultos, pronóstico infausto, tratamiento adicional con imatinib mejora la supervivencia libre de evento.
- amplificación intracromosómica del gen AML1 en el cromosoma 21 (iAMP21) y la muy rara t(17;19).
- t(v;11q23); reordenamiento de MLL (fenotipo característico: CD19+, CD10-, CD15+): alto recuento leucocitario, afectación de sistema nervioso central.
- t(12;21)(p13;q22); TEL-AML1 (fenotipo característico: CD19+, CD10+, CD13+): buena respuesta a tratamiento estándar.
- hiperdiploidía cromosómica (CD19+, CD10+; otros, variables): buena respuesta a tratamiento estándar.
- hipodiploidía (CD19+, CD10+; otros, variables): mal pronóstico.
- t(5;14)(q31;q32); IL3-IGH (CD19+, CD10+; otros, variables): eosinofilia reactiva inducida por IL-3, blastos pueden ser menos del 20 % en médula ósea e indetectables en sangre periférica.
- t(1;19)(q23;p13.3); E2A-PBX1 (fenotipo característico: CD19+, CD10+, IgMc): no presenta asociación significativa con la respuesta a protocolos terapéuticos actuales, pero sus peculiares fenotipo y genética sustentan su reconocimiento como una entidad aparte.

En **LLB-T**, aunque existen numerosas alteraciones citogenéticas recurrentes, no son necesarias para el diagnóstico y su relevancia pronóstica es controvertida. Se trata habitualmente de translocaciones, que involucran a la región reguladora de uno de los loci TCR y a genes como HOX11, MYC, TAL1, LYL1, HOX11L2, NOTCH1, etc.

Con respecto a los genes de receptores de antígenos (IgH y TCR), prácticamente todos los casos muestran reordenamiento clonal de los mismos, pero es frecuente la denominada «infidelidad de estirpe»: hasta un 70 % de LLB-B pueden presentar clonalidad adicional para TCR; en el caso de LLB-T, un 20 % pueden presentar también clonalidad para IgH.

**RECOMENDACIONES**

1. Debe tenerse siempre en cuenta, para interpretar los datos inmunohistoquímicos, que no hay ningún marcador absolutamente específico para una entidad. Como en cualquier otro campo de la patología, el diagnóstico debe establecerse en función de la morfología, con un panel de anticuerpos adecuado, y de acuerdo con el contexto clínico del paciente. Por ejemplo, TdT, aunque muy característico de LLB, puede ser positivo también en casos de LMA/SM y LBAG/LBDCG DH (MYC&BCL2). Grado C. Evidencia nivel IV.

2. Debe recordarse que los LLB, además de los marcadores de estirpe «propios», pueden expresar marcadores de la otra estirpe linfoide o incluso marcadores mieloides, aunque generalmente de forma más débil o restringida. Los diagnósticos de «estirpe ambigua» deben ceñirse a los criterios establecidos en la clasificación de la OMS (2022). Grado C. Evidencia nivel IV.

3. En tejidos parafinados, los marcadores más sensibles y específicos de estirpe B y T se consideran PAX5 y CD3 respectivamente, teniendo en cuenta las salvedades del apartado anterior (PAX5, por ejemplo, puede ser positivo también en algunas LMA, especialmente las que portan t(8;21)). De acuerdo con el panel IHQ de primera línea propuesto, se puede sustentar un diagnóstico de LLB de acuerdo con los siguientes perfiles resultantes:

    - LLB-B: CD79a+, PAX5+, CD10+, TdT+, CD3-, CD7-, mieloperoxidasa-. Grado C. Evidencia nivel IV.
    - LLB-T: CD3+, CD7+, TdT+, CD10- (puede ser+), CD79a-, PAX5-, mieloperoxidasa-. Grado C. Evidencia nivel IV.

4. El panel IHQ de segunda línea ayuda a establecer la estirpe tumoral en casos dudosos. También, aunque esto es opcional, permite especificar el grado de diferenciación de los LLB. Grado C. Evidencia nivel IV.

5. A la hora de valorar una masa mediastínica, debe recordarse que la mera presencia de células T con fenotipo inmaduro (TdT, CD1a, CD99 y CD3 +) no es sinónimo de LBL-T, ya que tanto en timo normal como en hiperplasias tímicas y timomas, existen poblaciones normales con inmunofenotipo similar. Grado C. Evidencia nivel IV.

6. De igual manera, la presencia de células CD19+, CD10+ en médula ósea no implica necesariamente un diagnóstico de LBL-B, ya que puede tratarse de hematogonias, precursores normales de células B. Grado C. Evidencia nivel IV.

7. En LLB los reordenamientos de IgH y TCR no son útiles para la asignación de estirpe B o T, dada la frecuente «infidelidad de estirpe». Es útil la demostración de clonalidad linfoide para apoyar un diagnóstico de proceso linfoproliferativo. Grado C. Evidencia nivel IV.

**Bibliografía**

1. Jaffe ES, Arber DA, Campo E, Harris NL, Quintanilla.Martínez L. Hematopathology. Second Edition. Saunders, 2017.

2. McGregor S, McNeer J, Gurbuxani S. Beyond the 2008 World Health Organization classification: the role of the hematopathology laboratory in the diagnosis and management of acute lymphoblastic leukemia. Semin Diagn Pathol 2012; 29 (1): 2-11.

3. Moorman AV. The clinical relevance of chromosomal and genomic abnormalities in B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. Blood 2012; 26(3):123-35.

4. Savage NM, Johnson RC, Natkunam Y. The spectrum of lymphoblastic, nodal and extranodal T-cell lymphomas: characteristic features and diagnostic dilemmas. Hum Pathol 2013; 44 (4): 451-71.

5. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leukemia. 2022;36(7):1720-1748.

6. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. Blood. 2022;140(11):1229-1253.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfomas T y T/NK: Linfomas T ganglionares: Linfoma de células T periférico (NOS)

**Máximo Fraga**
*Servicio de Anatomía Patológica, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago, Santiago de Compostela*

## DEFINICIÓN

Los linfomas T ganglionares constituyen un grupo heterogéneo de neoplasias, tanto por su patogenia como por sus características histológicas e inmunofenotípicas; habitualmente cursan con una clínica agresiva y pobre respuesta a terapia.

Se distinguen las siguientes categorías: el linfoma de células T periférico no específico (NOS) (LCTP), Linfomas ganglionares de células T con fenotipo *follicular helper* (LCTFH) y el linfoma de células grandes T anaplásico (LCGAT) ALK+ y ALK-. Los LCTFH incluyen el linfoma T angioinmunoblástico (LTAI), el linfoma de células T folicular (LTF) y otros linfomas T ganglionares con fenotipo *follicular helper* no específicos (LCTFH NOS).

El linfoma de células T periférico (LCTP) es una neoplasia clonal derivada de células linfoides T maduras. La OMS define la entidad como un grupo heterogéneo de linfomas T, mayoritariamente ganglionares, que no cumple los criterios diagnósticos de alguna de las otras categorías de linfoma T. Es por tanto un diagnóstico de exclusión en la mayoría de los casos.

El LTP es más común en poblaciones sin alta incidencia de infección por EBV (Norteamérica y Europa). La presentación es predominantemente ganglionar, pero puede existir extensión extraganglionar; a menudo es una enfermedad diseminada en el momento del diagnóstico. Puede haber incluso presentaciones extraganglionares (piel, tracto gastrointestinal…), pero en este caso deben descartarse primero entidades específicas. El curso clínico es muy agresivo, con escasa respuesta al tratamiento.

La morfología puede ser extremadamente variable y los subtipos morfológicos no tienen valor pronóstico. Las células neoplásicas pueden ser de tamaño medio-grande, con pleomorfismo, o pequeñas, con núcleos irregulares, en los que la atipia puede ser muy sutil.

El patrón de infiltración es con mayor frecuencia difuso, aunque no siempre (p. ej. variante «zona T», con patrón perifolicular).

El acompañamiento vascular e inflamatorio también es variable. Puede haber abundantes grupos de histiocitos epitelioides («variante linfoepitelioide» o «de Lennert», que tiende a permanecer más tiempo localizada en ganglios y a tener mejor pronóstico).

Un subgrupo de LCTP («LCTP citotóxico NOS») puede presentar fenotipo citotóxico, con expresión de uno o más marcadores de este tipo: TIA1, perforina, granzima B (GZB). Son más frecuentes en Asia y parecen tener peor pronóstico, salvo cuando se asocian a histología tipo «linfoma de Lennert».

Se distinguen al menos dos variantes moleculares de Linfoma T periférico NOS (GATA3 y TBX21/Tbet) con marcadores de inmunohistoquímica subrogados adecuados para diagnóstico clínico. Esta subclasificación molecular se asocia con patrones morfológicos y fenotípicos característicos y tiene implicación pronóstica.

Puede existir proliferación B asociada en el 20 % de casos (linfocitos B maduros o células plasmáticas). Es necesario recordar que evidencia de clonalidad B mediante PCR no es criterio suficiente para el diagnóstico de linfoma B, ya que puede detectarse en procesos linfoproliferativos T.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

**Biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto:** Es el método de elección.

**Punción biopsia con aguja gruesa (BAG):** se puede utilizar en caso de que no se pueda realizar una biopsia incisional/escisional por la situación clínica del paciente. Véase capítulo *Obtención de las muestras para diagnóstico hematopatológico*.

**Biopsia-cilindro de médula ósea:** Es el método de elección imprescindible para la estadificación de todos los casos. El examen morfológico del aspirado no es suficiente para el diagnóstico en estos casos y se requiere una biopsia cilindro.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

Los casos de LCTP plantean diagnóstico diferencial histopatológico con una gran variedad de procesos:

Otros linfomas:

- Linfoma T angioinmunoblástico.
- Linfoma de células grandes T anaplásico.
- Linfomas extranodales T/NK de tipo nasal
- Linfoma B rico en células T e histiocitos
- Linfoma de Hodgkin, tanto formas clásicas como de tipo predominio linfocítico

Linfadenopatías no neoplásicas:

- Hiperplasia linfoide paracortical (zona T)
- Linfadenitis virales, en particular mononucleosis infecciosa
- Linfadenitis por fármacos
- Linfadenopatía dermatopática
- Linfadenitis por toxoplasma
- Enfermedades granulomatosas
- Linfadenitis en el síndrome linfoproliferativo autoinmune (ALPS)
- Linfadenitis de Kikuchi-Fujimoto

El estudio diagnóstico inicial debe incluir un estudio morfológico adecuado con hematoxilina–eosina (HE). El panel inmunofenotípico básico debe incluir marcadores de línea linfoide (CD45), línea T (CD3, CD4, CD8, CD2, CD5, CD7), línea B (CD20, CD79a) y CD30. La expresión anormal de marcadores T es útil en el reconocimiento de procesos neoplásicos (pérdida de antígenos T, expresión intensa de

CD56…). También es conveniente incluir marcadores citotóxicos (TIA1 y/o GZB y/o perforina). Adicionalmente, en el diagnóstico diferencial se debe tener en cuenta:

- En el diagnóstico diferencial con linfoma T angioinmunoblástico y otros linfomas ganglionares con fenotipo TFH («T *follicular helper*») se deben incluir marcadores de células dendríticas foliculares (CD23 y/o CD21) y marcadores de linfocitos TFH (como PD1, CD10, BCL6, ICOS y/o CXCL13), así como estudio de EBV mediante hibridación in situ para EBER (la inmunohistoquímica para LMP1 tiene numerosos falsos negativos en esta situación).
- En el diagnóstico diferencial con linfoma de Hodgkin clásico se deben incluir CD30, CD15 y PAX5 u OCT2.
- En el diagnóstico diferencial con Linfoma T anaplásico se deben incluir CD30, EMA, ALK.
- En el diagnóstico diferencial con otros linfomas T se deben incluir marcadores inmunofenotípicos adicionales (p. ej. CD56 para linfoma T/NK extraganglionar de tipo nasal o un tipo de linfoma T asociado a enteropatía).
- En muchas ocasiones se precisa el análisis de clonalidad linfoide T (reordenamientos de TCR) y B (reordenamientos de IGH) como datos coadyuvantes al diagnóstico. La presencia de clonalidad linfoide T en un contexto morfológico y fenotípico apropiado (fenotipo aberrante) favorece el diagnóstico de proceso linfoproliferativo. Se pueden encontrar reordenamientos monoclonales de IgH en un subgrupo de casos de linfoma T, tanto LCTP como LTAI *(v. más adelante)*.

Estos diagnósticos diferenciales deben tener en cuenta características clínicas de la enfermedad (síntomas sistémicos, localización de las lesiones) y del paciente (edad), además de rasgos morfológicos, inmunofenotípicos y moleculares.

## PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ)

Todos los procesos linfoproliferativos T precisan estudio inmunofenotípico completo y, en la mayoría de las ocasiones, estudio molecular complementario.

**Panel de primera línea:** CD20, CD3, CD4, CD8, CD2, CD5, CD7, CD30, CD56.

**Paneles de segunda línea:**

- Marcadores citotóxicos.
- Hibridación in situ para EBERs.
- Paneles específicos para diagnóstico diferencial con LH y linfomas B: dirigidos.
- Ante el diagnóstico diferencial con subtipos específicos de linfomas T, se deben incluir marcadores fenotípicos específicos: PD1, CD10, BCL6, ICOS, CXCL13, ALK, TCRbF1, TCR γ, TIA1, perforina, GZB, GATA3, T-BET, CCR4.

## CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

Se recomienda análisis de clonalidad linfoide T y B (reordenamientos de TCR e IGH) mediante PCR y electroforesis capilar. La presencia de clonalidad linfoide T en un contexto morfológico y fenotípico apropiado (fenotipo aberrante) favorece el diagnóstico de proceso linfoproliferativo. Hay que recordar, sin embargo, que en algunos casos se puede observar clonalidad B.

Los estudios citogenéticos y/o de cariotipo no son necesarios para diagnóstico rutinario. Con frecuencia se detectan alteraciones cariotípicas complejas que ayudan a establecer clonalidad, pero no son significativas para el diagnóstico o pronóstico. Es interesante señalar, sin embargo, que dichas alteraciones son diferentes a las que se observan en otros linfomas T, como el linfoma T angioinmunoblástico y el linfoma anaplásico de células grandes T.

Se están identificando mutaciones en diversos genes (mediadores epigenéticos, vías señalizadoras y supresores tumorales) que en el futuro podrán mejorar la clasificación de estos tumores o suponer nuevas dianas terapéuticas.

**RECOMENDACIONES**

1. Panel de primera línea: CD20, CD3, CD4, CD8, CD2, CD5, CD7, CD30, CD56. Grado C. Evidencia nivel IV.
2. Paneles de segunda línea dirigidos (PAX5, CD15, PD1, CD10, BCL6, ICOS, CXCL13, CD21, CD23, ALK, TIA1, PERFORINA, GZB, TCR bF1, TCRα, TCRδ, T-BET, GATA3, CCR4, hibridación in situ para EBV-EBER. Grado C. Evidencia nivel IV.
3. Estudios de clonalidad linfoide B y T mediante PCR y electroforesis capilar en casos seleccionados. Grado C. Evidencia nivel IV.
4. Subclasificacion en los subtipos PTCL-TBX21 o PTCL-GATA3. Grado B. Evidencia nivel III.

**Bibliografía**


1. Asano N, Suzuki R, Kagami Y, et al. Clinicopathologic and prognostic significance of cytotoxic molecule expression in nodal peripheral T-cell lymphoma, unspecified. Am J Surg Pathol. 2005;29:1284-1293.
2. Jaffe ES, Arber DA, Campo E, Harris NL, Quintanilla.Martínez L. Hematopathology. Second Edition. Saunders, 2017.
3. Savage KJ.Blood Rev. Peripheral T-cell lymphomas. 2007 Jul;21(4):201-16.
4. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leukemia. 2022;36(7):1720-1748.
5. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. Blood. 2022;140(11):1229-1253.
6. Tan BT, Warnke RA, Arber DA. The frequency of B- and T-cell gene rearrangements and Epstein-Barr virus in T-cell lymphomas: a comparison between angioimmunoblastic T-cell lymphoma and peripheral T-cell lymphoma, unspecified with and without associated B-cell proliferations. J Mol Diagn. 2006 Sep;8(4):466-75.
7. Warnke RA, Jones D, Hsi ED. Morphologic and immunophenotypic variants of nodal T-cell lymphomas and T-cell lymphoma mimics. Am J Clin Pathol. 2007 Apr;127(4):511-27.
8. Amador C, et al. Reproducing the molecular subclassification of peripheral T-cell lymphoma-NOS by immunohistochemistry. Blood 2019 Dec 12;134(24):2159-2170. doi: 10.1182/blood.2019000779.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfomas T y T/NK: Linfomas T ganglionares: Linfomas ganglionares de células T con fenotipo *follicular helper NOS*

**Máximo Fraga**
*Servicio de Anatomía Patológica, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago, Santiago de Compostela*

## DEFINICIÓN

La característica común de esta categoría es la expresión por parte de las células T neoplásicas de un fenotipo FH, definido como la expresión de al menos 2 de los siguientes marcadores: PD1 (CD279), CD10, BCL6, CXCL13, ICOS, SAP y CCR5. Además de un fenotipo común, en estos tumores se observan alteraciones moleculares y citogenéticas compartidas (alteraciones que en un futuro podrían tener relevancia terapéutica).

Sin embargo, entre los tipos de linfomas englobados en esta categoría existen diferencias clinicopatológicas que justifican un diagnóstico más específico. Debemos distinguir, por tanto, entre linfoma T de tipo angioinmunoblástico (LTAI), linfoma de células T folicular (LTF) y linfomas T ganglionares con fenotipo *follicular helper* NOS (LCTFH NOS).

## LINFOMA T FOLICULAR DE TIPO LINFOMA T ANGIOINMUNOBLÁSTICO

El linfoma T angioinmunoblástico (LTAI) es una neoplasia de probable origen en células T del centro germinal, CD4+, caracterizado por un infiltrado celular polimorfo con una característica proliferación de vénulas de endotelio alto y células dendríticas foliculares.

Se presenta habitualmente como enfermedad sistémica (estadio III/IV) con síntomas constitucionales asociados (fiebre, rash cutáneo prurítico, edema…), anomalías analíticas (anemia, hipergammaglobulinemia policlonal…), esplenomegalia y otros desórdenes inflamatorios o autoinmunes (artritis, vasculitis, pleuritis, anemia hemolítica). Pronóstico semejante a LCTP, NOS.

Son criterios diagnósticos:

- Pérdida de la arquitectura ganglionar normal
- Centros germinales atróficos o ausentes.
- Prominente proliferación arborizante de vénulas de endotelio alto.
- Patente seno subcapsular.
- Infiltrado polimorfo paracortical que incluye linfocitos, inmunoblastos, células plasmáticas, histiocitos y eosinófilos. Proliferación de células dendríticas fuera de los centros germinales y alrededor de las vénulas de endotelio alto.

- La población T neoplásica habitualmente está enmascarada y es poco patente: usualmente células de tamaño pequeño o intermedio, con citoplasma claro y contorno nuclear irregular. Con frecuencia agrupadas alrededor de las vénulas.

Se describe una forma asociada a folículos hiperplásicos con centros germinales reactivos.

Muchos casos presentan expansión B acompañante, con frecuencia positiva para EBV-EBER. Estas células B pueden adoptar una morfología semejante a células de Hodgkin y Reed-Sternberg, incluso con positividad para CD30 y CD15, que puede ser causa de error diagnóstico.

El diagnóstico de linfoma B de células grandes asociado (frecuentemente EBV+) requiere la existencia de grandes grupos cohesivos de células B atípicas. De igual forma, el diagnóstico de plasmocitoma requiere grupos extensos de células plasmáticas monoclonales. La evidencia molecular (PCR) de clonalidad B no es suficiente para el diagnóstico de neoplasia B asociada.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

**Biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto:** Es el método de elección.

**Punción biopsia con aguja gruesa (BAG):** se puede utilizar en caso de que no se pueda realizar una biopsia incisional/escisional por la situación clínica del paciente. Véase capítulo *Obtención de las muestras para diagnóstico hematopatológico*.

**Biopsia-cilindro de médula ósea:** Es el método de elección imprescindible para la estadificación de todos los casos. El examen morfológico del aspirado no es suficiente para el diagnóstico en estos casos y se requiere una biopsia cilindro.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

Otros linfomas

- LCTP
- Linfomas B, en particular linfoma B de la zona marginal, nodal, y linfoma folicular.
- Linfoma B rico en células T e histiocitos
- Linfoma de Hodgkin, tanto formas clásicas como de tipo predominio linfocítico

Linfadenopatías no neoplásicas

- Hiperplasia linfoide paracortical (zona T)
- Linfadenitis virales, en particular mononucleosis infecciosa
- Linfadenitis por fármacos
- Linfadenitis por toxoplasma
- Enfermedad de Castleman, tipo plasmocelular

El diagnóstico inicial debe incluir un estudio morfológico adecuado con hematoxilina-eosina (HE). El panel inmunofenotípico básico debe incluir marcadores de línea linfoide (CD45), línea T (CD3, CD4, CD8, CD2, CD5, CD7) y línea B (CD20, cadenas ligeras κ y λ). Se deben incluir también marcadores de células foliculares dendríticas (CD23 y/o CD21), marcadores de linfocitos TFH (PD1, CD10, BCL6 y/o CXCL13), así como estudio de EBV mediante hibridación in situ para EBER (la inmunohistoquímica para LMP1 tiene numerosos falsos negativos en esta situación).

- En el diagnóstico diferencial con linfoma de Hodgkin clásico se deben incluir CD30, CD15 y PAX5 u OCT2.
- En el diagnóstico diferencial con linfoma anaplásico se deben incluir CD30 y ALK.

- En el diagnóstico diferencial con otros linfomas T se debe incluir marcadores inmunofenotípicos adicionales.
- En muchas ocasiones se precisa el análisis de clonalidad linfoide T (reordenamientos de TCR) y B (reordenamientos de IGH).

Estos diagnósticos diferenciales deben tener en cuenta características clínicas de la enfermedad (con especial atención a la presencia de síntomas sistémicos y anomalías analíticas en virtualmente todos los casos) y rasgos morfológicos e inmunofenotípicos.

## PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ)

Todos los procesos linfoproliferativos T precisan estudio inmunofenotípico completo, y en la mayoría de las ocasiones estudio molecular complementario.

**Panel de primera línea:** CD20, CD3, CD4, CD8, CD30, cadenas ligeras κ y λ, marcadores de células TFH (PD1, CD10, BCL6, ICOS y/o CXCL13), marcadores de células foliculares dendríticas (CD23 y/o CD21) e hibridación in situ para EBERs.

**Paneles de segunda línea:** Paneles específicos para diagnóstico diferencial con LH, otros linfomas T y linfomas B: dirigidos: CD56, PAX5, CD15, ALK, TIA1, PERFORINA, GZB, TCR bF1, TCRγ.

## CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

Se recomienda análisis de clonalidad linfoide T y B (reordenamientos de TCR e IGH) mediante PCR y electroforesis capilar.

Los estudios citogenéticos y/o de cariotipo (trisomía 3, trisomía 5, cromosoma X adicional) no son necesarios para diagnóstico rutinario: Tampoco se requieren estudios mutacionales, que descubren con frecuencia mutaciones de TET2, RHOA, DNMT3A e IDH2; gran parte de estas alteraciones, a excepción quizá de IDH2, parecen ser compartidas por las entidades provisionales que se describen a continuación.

## LINFOMAS T DE FENOTIPO FOLICULAR DE TIPO LINFOMA DE CÉLULAS T FOLICULAR (LTF) Y LINFOMAS T GANGLIONARES CON FENOTIPO FOLLICULAR HELPER NOS (LCTFH NOS)

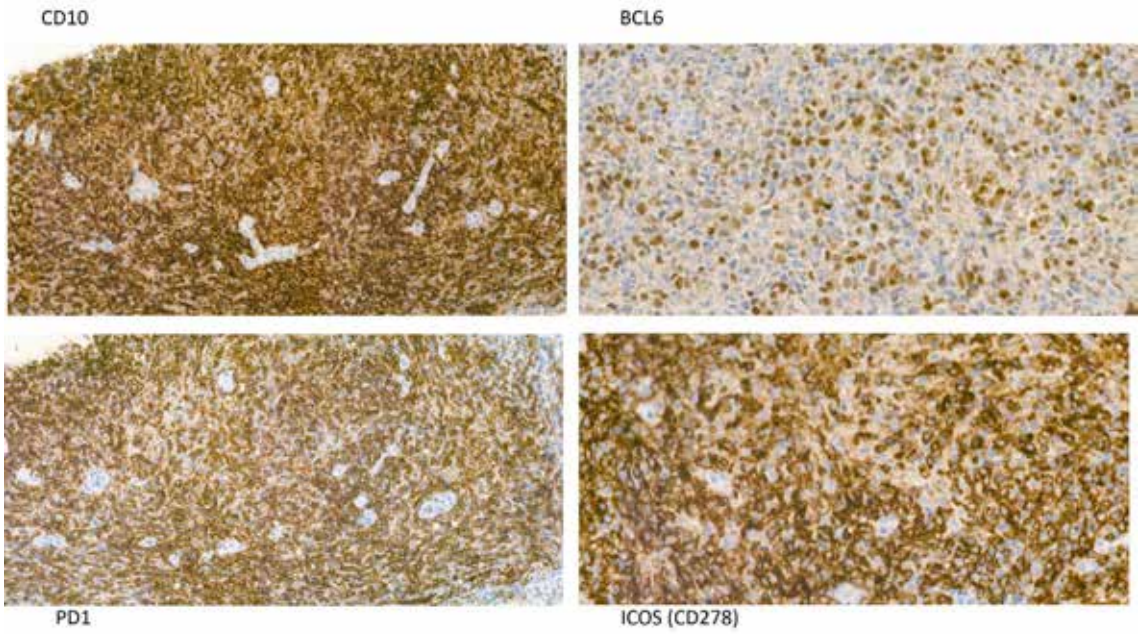
El LTF se caracteriza por crecimiento folicular o perifolicular de células neoplásicas con fenotipo TFH. Carece del infiltrado difuso polimorfo y la prominente vascularización del LTAI. Como este último, también puede presentar células blásticas B, a menudo EBV+. Se suele presentar de forma más localizada y con menor sintomatología general.

El LCTFH NOS comprendería casos que presentan fenotipo FTH pero carecen de las características histológicas descritas en los tipos precedentes.

## RECOMENDACIONES

1. Panel de primera línea: CD20, CD3, CD4, CD8, CD2, CD5, CD7, CD30, PD1, CD10, bcl6, ICOS, CXCL13, CD23, hibridación in situ para EBV-EBER. Grado C. Evidencia nivel IV.
2. Paneles de segunda línea dirigidos: CD56, PAX5, CD15, ALK, TIA1, PERFORINA, GZB, TCR bF1, TCRγ, ICOS. Grado C. Evidencia nivel IV.
3. Estudios de clonalidad linfoide B y T mediante PCR y electroforesis capilar en casos seleccionados. Grado C. Evidencia nivel IV.

**Figura 1.** Imágenes representativas de un caso con fenotipo TfH. Se muestran los marcadores usualmente positivos mediante inmunohistoquímica.




**BIBLIOGRAFÍA**

1. Attygalle A, Al-Jehani R, Diss TC, Munson P, Liu H, Du MQ, Isaacson PG, Dogan A.Neoplastic T cells in angioimmunoblastic T-cell lymphoma express CD10. Blood. 2002 Jan 15;99(2):627-33.

2. Bruggemann M, White H, Gaulard P, Garcia-Sanz R, Gameiro P, Oeschger S, Jasani B, Ott M, Delsol G, Orfao A, Tiemann M, Herbst H, Langerak AW, Spaargaren M, Moreau E, Groenen PJ, Sambade C, Foroni L, Carter GI, Hummel M, Bastard C, Davi F, Delfau-Larue MH, Kneba M, van Dongen JJ, Beldjord K, Molina TJ. Powerful strategy for polymerase chain reaction-based clonality assessment in T-cell malignancies Report of the BIOMED-2 Concerted Action BHM4 CT98-3936. Leukemia. 2007 Feb;21(2):215-21.

3. Dupuis J, Boye K, Martin N, et al. Expression of CXCL13 by neoplastic cells in angioimmunoblastic T-cell lymphoma (AITL): a new diagnostic marker providing evidence that AITL derives from follicular helper T cells. Am J Surg Pathol. 2006;30:490–494.

4. Jaffe ES, Arber DA, Campo E, Harris NL, Quintanilla.Martínez L. Hematopathology. Second Edition. Saunders, 2017.

5. Kojima M, Nakamura S, Itoh H, Motoori T, Sugihara S, Shinkai H, Masawa N. Angioimmunoblastic T-cell lymphoma with hyperplastic germinal centers: a clinicopathological and immunohistochemical study of 10 cases. APMIS. 2001 Oct;109(10):699-706

6. Merchant SH, Amin MB, Viswanatha DS. Morphologic and immunophenotypic analysis of angioimmunoblastic T-cell lymphoma: Emphasis on phenotypic aberrancies for early diagnosis. Am J Clin Pathol. 2006 Jul;126(1):29-38.

7. Quintanilla-Martinez L, Fend F, Moguel LR, Spilove L, Beaty MW, Kingma DW, Raffeld M, Jaffe ES.Peripheral T-cell lymphoma with Reed-Sternberg-like cells of B-cell phenotype and

genotype associated with Epstein-Barr virus infection. Am J Surg Pathol. 1999 Oct;23(10):1233-40.

8. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leukemia. 2022;36(7):1720-1748.
9. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. Blood. 2022;140(11):1229-1253.
10. Tan BT, Warnke RA, Arber DA. The frequency of B- and T-cell gene rearrangements and Epstein Barr virus in T-cell lymphomas: a comparison between angioimmunoblastic T-cell lymphoma and peripheral T-cell lymphoma, unspecified with and without associated B-cell proliferations. J Mol Diagn. 2006 Sep;8(4):466-75.
11. Warnke RA, Jones D, Hsi ED. Morphologic and immunophenotypic variants of nodal T-cell lymphomas and T-cell lymphoma mimics. Am J Clin Pathol. 2007 Apr;127(4):511-27.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfomas T y T/NK: Linfoma de células grandes T anaplásico, ALK+ y ALK-

**Máximo Fraga**
*Servicio de Anatomía Patológica, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago, Santiago de Compostela*

## DEFINICIÓN

El linfoma de células grandes T anaplásico (LCGTA) es una neoplasia sistémica habitualmente compuesta de grupos cohesivos de células grandes atípicas, CD30+, con abundante citoplasma y núcleos pleomórficos. Alrededor del 70 % expresan la kinasa del linfoma anaplásico (ALK1) y constituyen una entidad claramente definida, el LCGTA ALK+.

Se reconoce también el LCGTA ALK- como entidad clínica que incluye subtipos citogenéticos (p. ej. reordenamientos de IRF4/DUSP22 en 6p25 y reordenamientos de TP63)

Criterios diagnósticos:

- Grupos cohesivos de células grandes atípicas, CD30+, con abundante citoplasma y núcleos pleomórficos.
- «*Hallmark cells*»: células grandes características con núcleos en U, en C, arriñonados o «en donut», rodeando un área de Golgi eosinófila.
- Frecuente patrón intrasinusoidal y/o distribución perivascular.
- Numerosas variantes morfológicas:
  - Variante común o clásica, con las características antes mencionadas bien patentes
  - Variante de células pequeñas
  - Variante linfohistiocítica
  - Variantes ricas en neutrófilos, con células gigantes, con células en «anillo de sello», sarcomatoide, «Hodgkin-like» con esclerosis nodular.
- Inmunofenotipo T o «*null*».
- Ausencia de marcadores de línea B o inmunofenotipo clásico de LH.
- Inmunopositividad para ALK1 y translocación de ALK presentes por definición en los LCGTA ALK+

Los LCGTA ALK+ son más frecuentes en niños y pacientes jóvenes y presentan mejor pronóstico. Los criterios diagnósticos de los casos ALK1 negativos son controvertidos; en general se admiten como tales aquellos casos que muestran las características morfológicas de la variante común e intensa positividad para CD30, frecuentemente acompañada de EMA. No obstante, en muchos casos se discute su posible clasificación como LCTP, NOS.

La expresión de ALK1 no es exclusiva de LCGTA; otros tumores, entre los que se encuentra un subtipo de linfoma B de células grandes y una variante inhabitual de histiocitosis infantil autolimitada grandes pueden expresarlo.

Además de con afectación ganglionar, el LCGTA puede presentarse también con afectación de localizaciones extraganglionares, tejidos blandos y piel; con menor frecuencia, hueso y tracto gastrointestinal.

La infiltración de médula ósea puede ser muy sutil y siempre requiere estudio inmunohistoquímico para CD30 y ALK1.

Los LCGTA ALK- pueden mostrar, como los ALK+, un amplio espectro morfológico. De hecho, morfológicamente han de ser indistinguibles. No se reconoce, sin embargo, una variante de células pequeñas entre los ALK. Los criterios mínimos para diagnosticar LCGTA ALK- son: presencia de células «hallmark», patrón de crecimiento cohesivo y expresión intensa y uniforme de CD30. Otras características indicativas, aunque no imprescindibles, son la pérdida parcial de marcadores T, fenotipo citotóxico, positividad para EMA y crecimiento intrasinusoidal.

Existen dos variantes genéticas reconocidas, con alteraciones en DUSP22 y p63. Los casos con aleraciones geneticsa en DUSP22 (demostrables por FISH) presentan ausencia de expresión de marcadore citotóxicos, activación de JAK/STAT3 y sobreexpresión de LEF1. La ausencia de expresión de p63 tiene un alto VPN para la presencia de traslocación de p63.

Se distingue una forma de Linfoma T anaplásico ALK negativo asociado a implante mamario, con características clínico-patológicas distintivas.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

**Biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto:** Es el método de elección.

**Punción biopsia con aguja gruesa (BAG):** se puede utilizar en caso de que no se pueda realizar una biopsia incisional/escisional por la situación clínica del paciente. Véase capítulo *Obtención de las muestras para diagnóstico hematopatológico*.

**Biopsia-cilindro de médula ósea:** Es el método de elección imprescindible para la estadificación de todos los casos. El examen morfológico del aspirado no es suficiente para el diagnóstico en estos casos y se requiere una biopsia cilindro.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

- Carcinoma (debe recordarse la frecuente positividad para EMA del LCGTA)
- Melanoma
- Linfoma B difuso de células grandes ALK+
- Variantes de linfoma B difuso de células grandes con morfología anaplásica (ALK-).
- Formas clásicas de linfoma de Hodgkin, que a veces pueden ser muy ricas en células tumorales
- Linfoma de células grandes anaplásico, primario cutáneo.

El diagnóstico inicial debe incluir un estudio morfológico adecuado con hematoxilina–eosina (HE). El panel inmunofenotípico básico debe incluir marcadores de línea linfoide, línea T (CD3, CD4, CD8, CD2, CD5, CD7), línea B (CD20, PAX5), CD30, EMA y ALK. La presencia de un fenotipo T defectivo es habitual. La demostración de marcadores citotóxicos y la negatividad de PAX5 son útiles en el diagnóstico diferencial con LHC.

En algunas ocasiones se precisa el análisis de clonalidad linfoide T (reordenamientos de TCR) y B (reordenamientos de IGH).

## PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ)

**Panel de primera línea:** CD45, CD43, CD3, CD4, CD8, CD2, CD5, CD7, CD20, PAX5, CD30, EMA, ALK1.

**Paneles de segunda línea:** Marcadores citotóxicos (TIA1 y/o Granzima B o perforina), MUM1, p63. Paneles específicos para diagnóstico diferencial con LH y linfomas B

## CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

El **LCGTA ALK+** muestra características citogenéticas distintivas. La expresión inmunohistoquímica de ALK1 que lo define se correlaciona con una translocación del gen ALK, que puede mostrar diversas variantes. La demostración formal de la traslocación es mediante FISH con sondas de tipo BA.

La translocación más frecuente en el LCGTA ALK+ es la t(2;5) (alrededor del 80 % de los casos), que involucra a los genes ALK y NPM («*nucleophosmin*»). Dicha translocación se asocia con una positividad de ALK1 de distribución nuclear y citoplasmática.

En aproximadamente un 20 % de casos el reordenamiento de ALK es diferente y se asocia con una positividad de ALK1 fundamentalmente citoplasmática (p. ej. t(1;2), que produce la fusión TPM3-ALK).

No se precisa en la mayoría de los casos análisis de clonalidad linfoide (reordenamientos de TCR e IGH) mediante PCR y electroforesis capilar, excepto en los casos con fenotipo «nulo» y para descartar neoplasias B.

Con respecto al **LCGTA ALK-**, se distinguen dos grupos con características citogenéticas y clinicopatológicas diferentes: uno con reordenamientos de DUSP22 (DUSP22-IRF4 en 6p25, ≈30 % de los casos), que tiende a ser más monomorfo, sin gránulos citotóxicos y otro con reordenamientos de TP63, menos frecuente (≈10 %). De forma inusual se da la concurrencia de ambas alteraciones citogenéticas.

## RECOMENDACIONES

1. Recordar que no todos los LCGAT ALK+ muestran la gran cantidad de células «*hallmark*» típicas de la variante clásica. Por ello, debido a la gran variabilidad morfológica de estos tumores, no se ha de dudar en incluir ALK1 en el panel de estudio IHQ cuando exista alguna posibilidad de estar ante un LCGAT. Grado C. Evidencia nivel IV.
2. Panel de primera línea: CD45, CD43, CD3, CD4, CD8, CD2, CD5, CD7, CD20, PAX5, CD30, EMA, ALK1, MUM1, p63. Grado C. Evidencia nivel IV.
3. Paneles de segunda línea: Marcadores citotóxicos (TIA1 y/o Granzima B o perforina), MUM1, p63.
4. Estudios de clonalidad linfoide B y T mediante PCR y electroforesis capilar en casos seleccionados. Grado C. Evidencia nivel IV.
5. Los criterios mínimos para diagnosticar LCGTA ALK- son: presencia de células «*hallmark*», patrón de crecimiento cohesivo y expresión intensa y uniforme de CD30. En estos casos seria recomendable la confirmación mediante FISH de reordenamientos de DUSP22/p63, en función del perfil de inmunohistoquímica. Grado C. Evidencia nivel IV.
6. De todas formas, es recomendable remitir estos casos a centros con larga trayectoria y experiencia en el diagnóstico de neoplasias hematolinfoides. Grado C. Evidencia nivel IV.

**Figura 1.** Imagen de una morfología clásica con células grandes anaplásicas.

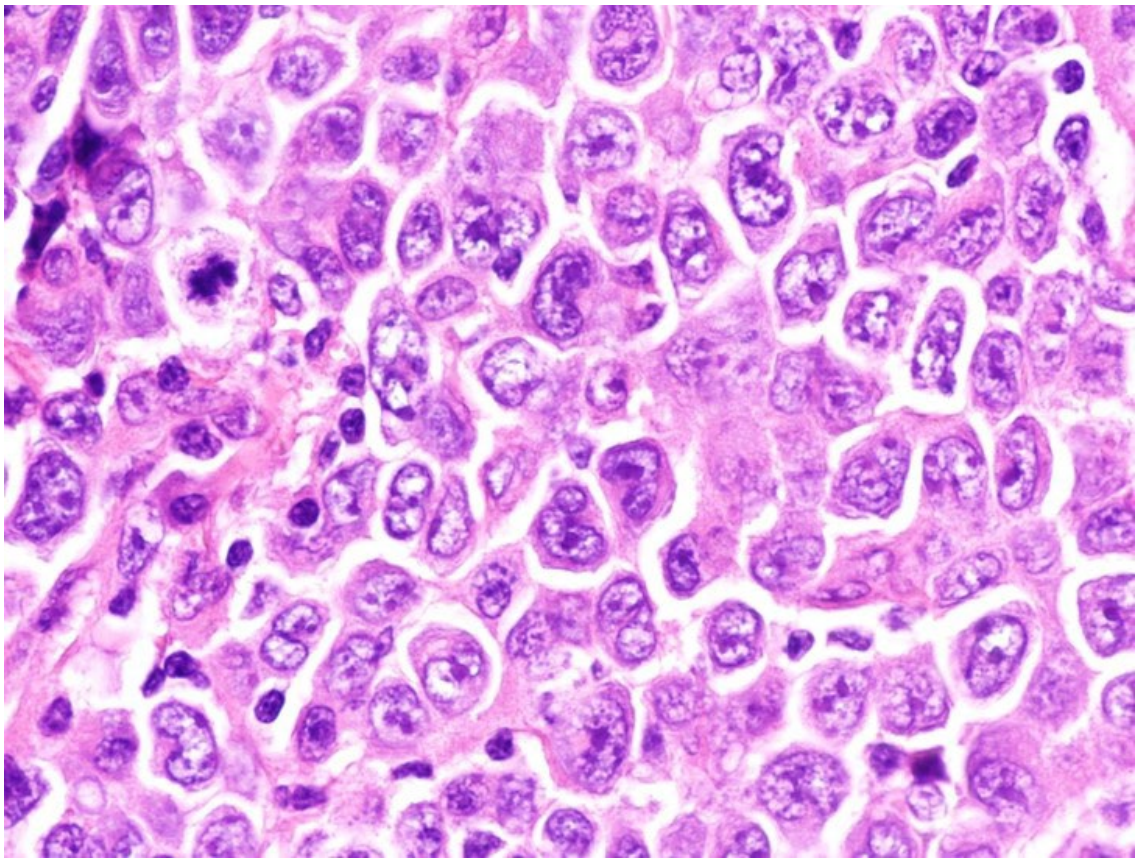
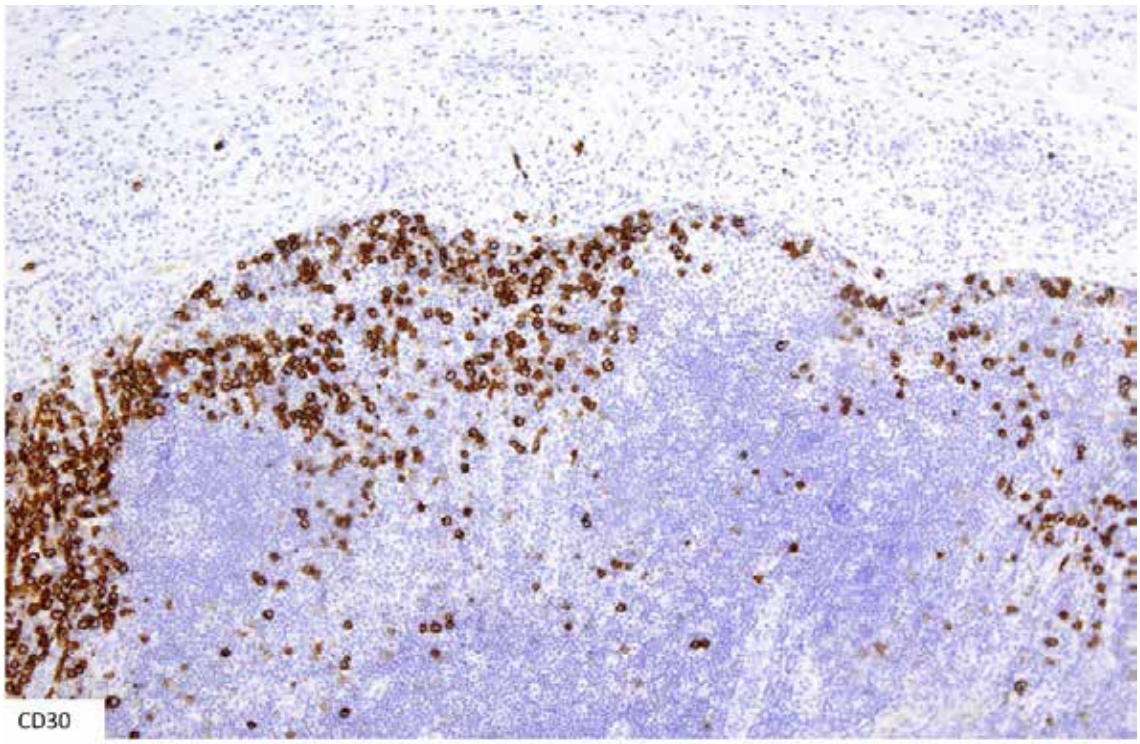


**Figura 2.** Tinción de IHQ para CD30 mostrando un patrón característicamente intrasinusoidal.



**Bibliografía**


1. Benharroch D, Meguerian-Bedoyan Z, Lamant L, et al. ALK-positive lymphoma: a single disease with a broad spectrum of morphology. Blood 1998; 91: 2076.
2. Feldman AL, Dogan A, Smith DI, et al. Massively parallel mate pair DNA libraryisequencing for translocation discovery recurrent t(6;7)(p25 3, q32 3) translocations in ALK negative anaplastic large cell lymphomas. Blood 2010; 116: 278.
3. Lamant L, McCarthy K, d'Amore E, et al. Prognostic impact of morphologic and phenotypic features of childhood ALK-positive anaplastic large-cell lymphoma: results of the ALCL99 study. J Clin Oncol. 2011
4. Lamant-Rochaix L, Feldman AL, Delsol G, et al. Anaplastic large cell lymphoma, ALK positive and ALK negative. En: Jaffe ES, Arber DA, Campo E, et al. Hematopathology. Second Edition. Saunders, 2017: 673-691.
5. Delsol G, Jaffe ES, Falini B, et al. Anaplastic large cell lymphoma (ALCL), ALK-negative En: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al (Eds.). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Fourth Edition. IARC: Lyon 2008: 317-319.
6. Mason DY, Campo E, Harris NL, et al. Anaplastic large cell lymphoma (ALCL), ALK-positive En: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al (Eds.). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Fourth Edition. IARC: Lyon 2008: 312-316.
7. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leukemia. 2022;36(7):1720-1748.
8. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. Blood. 2022;140(11):1229-1253.
9. Jaffe E, Ashar BS, Clemens MW et al. Best Practices Guideline for the Pathologic Diagnosis of Breast Implant-Associated Anaplastic Large-Cell Lymphoma. J Clin Oncol 2020 Apr 1;38(10):1102-1111.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfomas T y T/NK: Leucemia de linfocitos grandes granulares, leucemia prolinfocítica, linfoma hepatoesplénico, leucemias NK y linfomas enteropáticos

**Olga Balagué**
*Unidad de Hematopatología, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clinic, Barcelona*

**DEFINICIÓN Y FRECUENCIA DE LA ENTIDAD.**

En este capítulo no se describe una sola entidad, sino un grupo de síndromes linfoproliferativos de presentación extranodal y que, aunque pueden afectar la piel no son primariamente cutáneos. Las entidades clínico-patológicas incluidas en este capítulo son muy poco frecuentes representando entre el 2-5 % de los procesos linfoproliferativos y el diagnóstico preciso es importante por las implicaciones pronósticas y terapéuticas que conlleva. Como en todos los linfomas T, la forma de presentación clínica forma parte esencial de la definición de la entidad y debe orientar todo el proceso diagnóstico. Así, la presencia de una marcada hepatoesplenomegalia es característica de la leucemia prolinfocítica T y del linfoma T hepatoesplénico mientras que la leucemia de linfocitos grandes granulares se manifiesta con baja carga tumoral sin organomegalia o con una esplenomegalia leve, citopenias y frecuentemente asociada a enfermedad autoinmune. La presencia de adenopatías junto con afectación cutánea, en este contexto, favorecería el diagnóstico de leucemia prolinfocítica T o de una leucemia linfoma T del adulto. La afectación de sangre periférica, con linfocitosis, es común a la leucemia prolinfocítica T, la leucemia de linfocitos grandes granulares, las formas aguda y crónica de las leucemia/linfoma T del adulto y a los procesos derivados de linfocitos NK mientras que es excepcional en el linfoma T hepatoesplénico y en el enteropático; en este último es característica la presencia de enteropatía, especialmente en enfermos celíacos. La hipercalcemia es típica de la leucemia/linfoma T del adulto. El origen geográfico del paciente puede ser también útil en la aproximación al diagnóstico. Así, los síndromes linfoproliferativos T de la infancia, se observan fundamentalmente en niños de Asia y América del Sur (especialmente en Méjico) mientras que la leucemia linfoma T del adulto es más frecuente en pacientes emigrantes de Japón, Caribe, América del Sur (Chile y Brasil principalmente), África central e Irán. No obstante, los movimientos migratorios recientes influyen en la distribución de estas entidades, las cuales pueden también afectar a pacientes que no proceden de esas áreas geográficas.

Por la complejidad del diagnóstico y el tratamiento de este grupo de neoplasias, la recomendación es que ante la sospecha de que nos enfrentamos a un proceso de este grupo, el diagnóstico debe realizarse en un centro con experiencia y con posibilidad de realizar un estudio completo genético, inmunofenotípico y molecular, y que preferentemente disponga de experiencia en el tratamiento de estos pacientes.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

El tipo de muestra adecuada para el diagnóstico depende de la forma de presentación de la enfermedad. El estudio citomorfológico e inmunfenotípico por citometría de flujo de los linfocitos en sangre periférica y médula ósea, y la biopsia de médula ósea con inmunohistoquímica son mandatorios, en especial en las formas con linfocitosis y en los que no disponemos de una muestra tisular tal como el bazo para el estudio histológico. Mientras que en la leucemia prolinfocítica T, la infiltración medular suele ser difusa o mixta (nodular e intersticial), en la leucemia de linfocitos granulares y el linfoma hepatoesplénico es predominantemente intrasinusoidal. En estas dos últimas entidades y en especial en la leucemia de linfocitos granulares la infiltración puede ser mínima por lo que el estudio inmunohistoquímico es esencial para ponerla de manifiesto. Aunque la esplenectomía se realiza en algunos pacientes con fines diagnósticos y terapéuticos y la histología esplénica permite diferenciar claramente la leucemia prolinfocítica T de la leucemia de linfocitos grandes granulares, no siempre se dispone de ella. La afectación cutánea se halla presente en el 40 % de casos de leucemia/linfoma T del adulto y hasta el 25 % de leucemias prolinfocíticas T. La biopsia cutánea puede ser de ayuda en el diagnóstico diferencial ya que permite distinguir la leucemia prolinfocítica T de linfomas cutáneos T, especialmente del síndrome de Sézary, puesto que en la primera no se aprecia nunca epidermotropismo. Sin embargo, el 50 % de casos de leucemia/linfoma T del adulto muestra epidermotropismo y en estos casos, la biopsia cutánea por sí sola no permite distinguirla de linfomas primarios cutáneos T. El estudio serológico para el virus HTLV-1 es mandatorio para establecer el diagnóstico de leucemia/linfoma T del adulto y se recomienda éste en todos los pacientes emigrantes de zonas endémicas para este retrovirus a los que se diagnostica de linfoma T en la piel o de linfoma T periférico en el ganglio linfático. El título de inmunoglobulinas frente antígenos del virus de Epstein-Barr (EBV), o la carga viral en suero, además del estudio de hibridación in situ para el RNA del virus en el tejido son imprescindibles en el diagnóstico de los síndromes linfoproliferativos pediátricos asociados a EBV así como en el de los linfomas T/NK y las leucemias agresivas de células NK, que a diferencia de las proliferaciones crónicas de células NK son con frecuencia EBV positivas.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS.

El diagnóstico diferencial de estos procesos se plantea esencialmente con proliferaciones reactivas y con otros procesos linfoproliferativos T.

### Linfadenitis reactivas

Algunas formas de presentación pueden imitar un proceso reactivo. La leucemia prolinfocítica, cuando afecta el ganglio, puede remedar un patrón de hiperplasia parafolicular preservando los folículos linfoides. Por ello es esencial disponer de información clínica y del análisis morfológico e inmunofenotípico de los linfocitos de sangre periférica.

De igual manera, los síndromes linfoproliferativos T del niño asociados a EBV pueden preservar exquisitamente la arquitectura del ganglio o de la amígdala. En estos casos, sólo la hibridación in situ para EBERs del EBV destaca una masiva proliferación perifolicular de células T positivas para este virus.

### Dermatitis reactivas

La leucemia/linfoma T del adulto en su forma indolente o «*smoldering*» puede manifestarse con un «*rash*» cutáneo exfoliativo con infiltración linfoide muy poco atípica citológicamente que puede confundirse con un proceso inflamatorio o si muestra epidermotropismo con un linfoma T primario cutáneo especialmente con la afectación cutánea por el Síndrome de Sézary o una Micosis Fungoides.

**Mucositis reactivas**

El diagnóstico del linfoma T/NK nasal se retrasa frecuentemente porque las biopsias muestran solo tejido necrótico desvitalizado o material fibrinoleucocitario, dado que las lesiones son altamente angioinvasivas y producen necrosis. Sólo biopsias profundas pueden demostrar la lesión diagnóstica característica sobre tejido viable.

**Otros procesos linfoproliferativos**

La leucemia/linfoma T del adulto en su forma linfomatosa puede presentar una histología ganglionar que no puede distinguirse de los linfomas periféricos T NOS.

Asimismo, la biopsia de médula ósea en la leucemia de linfocitos grandes granulares puede mostrar además de la infiltración leucémica intrasinusoidal o intersticial, nódulos linfoides reactivos compuestos en su mayoría por linfocitos pequeños B CD20+ que pueden dar lugar a un diagnóstico erróneo de linfoma B de bajo grado.

**Procesos linfoproliferativos de infiltración intrasinusoidal**

La infiltración intrasinusoidal en una biopsia hepática afecta por linfoma T hepatoesplénico puede ser sutil, con mínima atipia citológica sobre un hígado que muestra la arquitectura preservada. De igual forma, la infiltración intrasinusoidal en el bazo o en la médula ósea de una leucemia de linfocitos grandes granulares o una leucemia crónica de células NK pueden pasar desapercibidas a un patólogo no experto si no se realiza un estudio inmunohistoquímico completo. El estudio de clonalidad del receptor de células T (RCT) mediante técnicas de PCR es mandatario para descartar proliferaciones de linfocitos granulares reactivas y confirmar el diagnóstico de leucemia ya que las características citológicas e inmunofenotípicas son muy similares en los procesos clonales y los reactivos. Recientemente se han descrito procesos NK indolentes del tracto gastrointestinal que no deben ser confundidos con linfomas NK. Por todo ello, es imprescindible una correcta sospecha clínica en el momento de interpretar la biopsia. Todo caso discordante debería ser revisado por un experto.

**PANELES DE IHQ**

El abordaje de las neoplasias linfoides T requiere de un número amplio de marcadores, algunos de los cuales solo están disponibles para técnicas de citometría de flujo. En general, el poder definir la línea linfoide vs NK; linfoide T CD8+, CD4+ o doble negativo o doble positivo ayuda a orientar el proceso. La expresión de cadenas del TCR en superficie o citoplasma excluye línea NK, aunque algunos linfomas de tipo NK nasal pueden tener un genotipo y fenotipo T. En los últimos años disponemos de anticuerpos que funcionan en tejido parafinado para identificar células T α/β y γ/δ. Otros marcadores imprescindibles son CD25, CD56, CD57 y anticuerpos que detectan las granulaciones citotóxicas (TIA-1, Granzima B, Perforina). Además, es imprescindible el uso de hibridación para EBER que, en la mayoría de los casos, no es reemplazable por otros antígenos de latencia del EBV como la proteína LMP1.

En la Tabla 1 se describen los anticuerpos disponibles para tejido en parafina y en la Tabla 2 se resumen las características inmunofenotípicas de los diversos procesos linfoproliferativos T incluidos en este capítulo.

**Tabla 1.** Lista de marcadores que pueden aplicarse en tejido en parafina para el diagnóstico de linfomas T, NK y T/NK.

| Grupo | Marcadores |
|---|---|
| **Célula T** | CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD52, TCRβ, TCRα, TCRδ |
| **Citotóxico** | TIA1, granzima B, perforina |
| **Treg** | FoxP3, CD25, CD152 |
| **NK** | CD16, CD56, CD57 |
| **IEL*** | CD103 |
| **Th1** | T-Bet |
| **Th2** | GATA3 |
| **Activación** | CD25, CD30 |
| **Proliferación** | Ki67 |
| **EBV** | EBER ISH (hibridación in situ), LMP1, EBNA2 |

*IEL: linfocitos intraepiteliales (*Intraepithelial lymphocyte*).

**Tabla 2.** Resumen de las características inmunofenotípicas

| Entidad | CD3 | CD5 | CD7 | CD4 | CD8 | CD25 | CD16 | CD56 | CD57 | CD52 | Gránulos | TCR | EBER | CD30 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **PLL*** | + | + | + | +60% | +15% | +25% | - | - | - | + | - | αβ | - | |
| **LGL**** | + | +/- | +/- | - | +85% | - | + | -/+ | + | + | activados | αβ | - | |
| **cNK***** | +citop | - | - | - | +/- | - | + | + | - | ? | activados | - | - | |
| **aNK** | +citop | - | - | - | - | - | +débil | + | + | ? | activados | - | + | |
| **NK/T***** | +citop | - | ? | - | - | +30% | -/+ | + | -/+ | +25% | activados | - | + | variable |
| **HSTL** | + | - | - | - | -/+ | - | + | +/- | - | -/+ | incompleto | γδ>αβ | -/+ | |
| **ATLL** | + | + | - | + | - | + | +/- | +/- | +/- | + | - | αβ | - | |
| **Linfoma T asociado a celiaca.** | + | + | - | - | + | +25% | +/- | + | +/- | ? | activados | αβ | - | +/- |
| **Linfoma T intestinal monomórfico y epiteliotropico** | + | - | + | - | + | | | + | | | Parcial (TIA1+) | γδ>αβ silentes | - | |
| **Linfoma T intestinal NOS** | + | | | +/- | - | | | - | | | Parcial (TIA1+) | Aβ, silentes | - | +/- |
| **Linfoma T indolente del tracto gastrointestinal***** | + | | | + | + | | | - | | | activados | αβ | - | |

*Coexpresión de CD4 y CD8 en el 25 % de los casos y ausencia de expresión de CD3 y RCT en la membrana en el 20 % de los casos. Una expresión elevada de Tcl-1 es frecuente pero no exclusiva de esta enfermedad

**Expresan gránulos citotóxicos TIA-1, granzima B y perforina independientemente de que la proliferación sea de linfocitos CD8+ o la menos frecuente CD4+

***Expresan gránulos citotóxicos TIA-1, perforina y Granzima B.

****Ki67 <10 %.

## ESTUDIO CITOGENÉTICO/MOLECULAR

El estudio de clonalidad es de gran utilidad en las neoplasias linfoides T dada la ausencia de algún marcador subrogado por inmunohistoquímica, similar a las cadenas ligeras en los linfomas B, que pueda usarse en la rutina diagnóstica. Un inmunofenotipo aberrante con pérdida de expresión de antígenos T es sugestivo pero no definitivo de un proceso clonal. En las proliferaciones de linfocitos granulares deberá determinarse siempre la clonalidad mediante el análisis del reordenamiento de las cadenas β o γ del RCT mediante PCR. Mediante citometría de flujo, la expresión de un mismo receptor de tipo inhibidor de células NK (KIR) se puede usar como sinónimo de clonalidad en la leucemia de linfocitos grandes granulares T y NK aunque solo permite obtener información en una proporción de casos. Recientemente mutaciones de STAT3 se han implicado en la patogénesis de la leucemia de linfocitos grandes granulares T y NK hallándose presente en alrededor del 20-23 % de pacientes. Hay alteraciones genéticas características y recurrentes en algunos de estos procesos en especial en la leucemia prolinfocítica T que muestra alteraciones recurrentes tales como inv(14)(q11;q32) que involucra el reordenamiento del oncogén TCL1 (80 % casos) e iso(8q) (60 % de casos). Si bien la citogenética o FISH no son imprescindibles en casos francamente leucémicos y con morfología típica de prolinfocítica T, sí que son de ayuda y corroboran el diagnóstico en las variantes morfológicas y/o en formas de bajo voltaje de leucemia prolinfocítica. La presencia de isocromosoma 7 que puede estudiarse mediante técnica de FISH en parafina puede sustentar el diagnóstico de linfoma T hepatoesplénico. Estos estudios sólo están disponibles en unidades de diagnóstico hematopatológico especializado.

**RECOMENDACIONES**

1. El grupo de neoplasias que se discuten en este capítulo son entidades clínico-patológicas muy poco frecuentes que requieren para su diagnóstico definitivo la integración de datos clínicos y de laboratorio y de unidades de hematopatología expertas en estos procesos y con gran variedad de técnicas disponibles. Grado C. Evidencia nivel IV

2. El informe final del patólogo debe incluir una descripción detallada de la citología, patrón de infiltración tisular, inmunofenotipo y a ser posible anomalías genéticas/moleculares, especialmente en casos problemáticos con dificultades para establecer un diagnóstico final. Grado C. Evidencia nivel IV

3. Es recomendable referir las muestras a centros de referencia nacionales con experiencia en este tipo de enfermedades en fases iniciales del proceso para un diagnóstico y manejo adecuado del paciente. Grado C. Evidencia nivel IV

*Los autores desean agradecer a las Dras Blanca González y Estella Matutes su colaboración en la redacción de este capítulo.

**Bibliografía**

1. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leukemia. 2022;36(7):1720-1748.

2. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. Blood. 2022;140(11):1229-1253.

3. Garcia-Herrera A, Song JY, Chuang SS, Villamor N, Colomo L, Pittaluga S, Alvaro T, Rozman M, de Anda Gonzalez J, Arrunategui AM, Fernandez E, Gonzalvo E, Estrach T, Colomer D, Raffeld M, Gaulard P, Campo E, Jaffe ES, Martinez A.Nonhepatosplenic γδ T-cell lymphomas represent a spectrum of aggressive cytotoxic T-cell lymphomas with a mainly extranodal presentation. Am J Surg Pathol. 2011Aug;35(8):1214-25. doi:10.1097/PAS.0b013e31822067d1. PubMed PMID: 21753698;PubMed Central PMCID: PMC3136885.

4. Osuji N, Beiske K, Randen U, Matutes E, Tjonnfjord G, Catovsky D, Wotherspoon A. Characteristic appearances of the bone marrow in T-cell large granularlymphocyte leukaemia. Histopathology. 2007 Apr;50(5):547-54. PubMed PMID:17394489.

5. Osuji N, Matutes E, Catovsky D, Lampert I, Wotherspoon A. Histopathology of the spleen in T-cell large granular lymphocyte leukemia and T-cell prolymphocytic leukemia: a comparative review. Am J Surg Pathol. 2005 Jul;29(7):935-41. Review. PubMed PMID: 15958859.

6. Jerez A, Clemente MJ, Makishima H, Koskela H, Leblanc F, Peng Ng K, Olson T, Przychodzen B, Afable M, Gomez-Segui I, Guinta K, Durkin L, Hsi ED,McGraw K, Zhang D, Wlodarski MW, Porkka K, Sekeres MA, List A, Mustjoki S, Loughran TP, Maciejewski JP. STAT3 mutations unify the pathogenesis of chronic lymphoproliferative disorders of NK cells and T-cell large granular lymphocyte leukemia. Blood. 2012 Oct 11;120(15):3048-57. doi: 10.1182/blood-2012-06-435297. Epub 2012 Aug 2

7. Dungarwalla M, Matutes E, Dearden CE. Prolymphocytic leukaemia of B- and T-cell subtype: a state-of-the-art paper. Eur J Haematol. 2008 Jun;80(6):469-76. doi: 10.1111/j.1600-0609.2008.01069.x. Epub 2008 Mar 10. Review. PubMed PMID:18331594.

8. Asano N, Kato S, Nakamura S. Epstein-Barr virus-associated natural killer/T-cell lymphomas. Best Pract Res Clin Haematol. 2013 Mar;26(1):15-21. doi:10.1016/j.beha.2013.04.002. Epub 2013 May 25. Review. PubMed PMID: 23768637.

9. Suzuki R, Takeuchi K, Ohshima K, Nakamura S. Extranodal NK/T-cell lymphoma: diagnosis and treatment cues. Hematol Oncol. 2008 Jun;26(2):66-72. doi:10.1002/hon.847. Review. PubMed PMID: 18283711.

10. Semenzato G, Marino F, Zambello R. State of the art in natural killer cell malignancies. Int J Lab Hematol. 2012 Apr;34(2):117-28. doi:10.1111/j.1751-553X.2011.01374.x. Epub 2011 Sep 6. Review. PubMed PMID: 21895989.

11. Ohshima K. Pathological features of diseases associated with human T-cell leukemia virus type I. Cancer Sci. 2007 Jun;98(6):772-8. Epub 2007 Mar 27. Review. PubMed PMID: 17388788.

12. Matutes E. Adult T-cell leukaemia/lymphoma. J Clin Pathol. 2007 Dec;60(12):1373-7. Review.

13. Vega F, Medeiros LJ, Gaulard P. Hepatosplenic and other gammadelta T-celllymphomas. Am J Clin Pathol. 2007 Jun;127(6):869-80. PubMed PMID: 17509984.

14. Wlodarska I, Martin-Garcia N, Achten R, De Wolf-Peeters C, Pauwels P, Tulliez M, de Mascarel A, Brière J, Patey M, Hagemeijer A, Gaulard P. Fluorescence in situ hybridization study of chromosome 7 aberrations in hepatosplenic T-cell lymphoma: isochromosome 7q as a common abnormality accumulating in forms with features of cytologic progression. Genes Chromosomes Cancer. 2002 Mar;33(3):243-51. PubMed PMID: 11807981.

15. Swerdlow SH, Jaffe ES, Brousset P, Chan JK, de Leval L, Gaulard P, Harris NL, Pileri S, Weiss LM; International Lymphoma Study Group. Cytotoxic T-cell and NK-cell lymphomas: current questions and controversies. Am J Surg Pathol. 2014 Oct;38(10):e60-71. doi: 10.1097/PAS.0000000000000295. Review. PubMed PMID:25025449.

16. Montes-Moreno S, King RL, Oschlies I, Ponzoni M, Goodlad JR, Dotlic S, Traverse-Glehen A, Ott G, Ferry JA, Calaminici M. Update on lymphoproliferative disorders of the gastrointestinal tract: disease spectrum from indolent lymphoproliferations to aggressive lymphomas. Virchows Arch. 2020 May;476(5):667-681. doi: 10.1007/s00428-019-02704-8. Epub 2019 Nov 26. Erratum in: Virchows Arch. 2020 Feb 21;: PMID: 31773249.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Linfomas T y T/NK: Síndromes linfoproliferativos T pediátricos asociados a VEB

**Olga Balagué**
*Unidad de Hematopatología, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clinic, Barcelona*

Los síndromes linfoproliferativos (LPD) EBV+T y NK de la infancia son un grupo de trastornos poco frecuentes con predilección por la etnias asiática y nativa americana, que afectan principalmente a la población pediátrica, pero que también pueden presentarse raramente en adultos. Tanto la 5th WHO como la ICC reconocen actualmente 4 entidades: hidroa vacciniforme (HV)-LPD que incluye las formas clásica y sistémica, la alergia grave a las picaduras de mosquitos, la enfermedad sistémica crónica activa por VEB (CAEBVD) y el linfoma sistémico de células T VEB+ de la infancia. La HVLPD sistémica muestra síntomas sistémicos persistentes de CAEBVD o enfermedad extracutánea, y debe distinguirse de la CAEBVD sistémica sin HVLPD, que se caracteriza por un curso clínico aún más agresivo.

## HIDROA VACCINIFORME-LPD

El rasgo histológico característico es la degeneración reticular epidérmica que conduce a vesiculación espongiótica intraepidérmica. El infiltrado linfoide predomina en la dermis alrededor de anexos y vasos sanguíneos, a menudo con características angiodestructivas, pero puede extenderse al tejido subcutáneo. Las células neoplásicas son pequeñas y carecen de atipia significativa, muestran un fenotipo de células T citotóxicas con expresión de TIA-1, granzima B y perforina. Las células son en su mayoría CD8+ y en algunos casos CD4+ o incluso doble CD4/CD8+.En ocasionales casos se observa un fenotipo de célula NK, estos suelen tener una afectación más paniculítica. CD30 está frecuentemente expresado. EBER es positivo pero LMP-1 suele ser negativo. Una mayoría de casos muestra un reordenamiento clonal de TCR.

## ENFERMEDAD SISTÉMICA CRÓNICA ACTIVA POR VEB (CAEBVD)

Es un trastorno progresivo de ≥ 3 meses de duración en el que los pacientes presentan niveles marcadamente elevados de ADN del EBV en la sangre e infiltración de órganos por linfocitos infectados por EBV en ausencia de inmunodeficiencia conocida. Dado que los casos que afectan a las células B suelen estar en el contexto de una inmunodeficiencia primaria, la enfermedad CAEBV ahora incluye solo la enfermedad de células T y NK.Las células neoplásicas en los diferentes órganos no muestran cambios sugestivos de una linfoproliferación neoplásica. El diagnóstico suele realizarse en una biopsia hepática o de ganglio linfático. El hígado muestra infiltración sinusoidal y portal sugestiva de hepatitis viral. Los ganglios linfáticos muestran hiperplasia folicular o paracortical, necrosis focal o pequeños granulomas. En el 60 % de los casos, las células T están infectadas por VEB y en el 40 %, células NK. Las células T infiltradas son predominantemente CD4+ y en pocos casos CD8+. El EBER es positivo. El curso clínico

varía pero suele ser prolongado, La linfohistiocitosis hemofagocítica (HLH) es una complicación potencialmente mortal (24 %) que suele ocurrir cuando la enfermedad progresa. En la actualidad, el trasplante de células madre hematopoyéticas es la única terapia curativa.

**ALERGIA GRAVE A LAS PICADURAS DE MOSQUITO;**

Es una manifestación cutánea de CAEBV-T/NK con un prolongado curso clínico. La enfermedad es muy rara y la mayoría de los casos se han notificado en niños de Japón, China, Taiwán y México. Por lo general, en cuestión de horas después de una picadura de mosquito, los pacientes presentan eritema, edema, formación de ampollas hemorrágicas y ulceración profunda, asociadas con fiebre y síntomas sistémicos variables. Las lesiones se curan con cicatrización y el paciente es asintomático entre las picaduras de mosquito. Hay un aumento de la IgE sérica, títulos elevados de ADN de EBV en sangre periférica y linfocitosis de células NK.Los pacientes también pueden desarrollar otras formas de EBVTNKLPDde la infancia, incluyendo HV-LPD, CAEBV-NK sistémica, EBV-HLH, y algunos casos pueden progresar a linfoma. Las características histológicas son similares a las de HV-LPD perocon necrosis epidérmica más extensa, ulceración y uninfiltrado polimorfo de linfocitos pequeños y grandes histiocitos y numerosos eosinófilos en la dermis y el tejido subcutáneo con evidencia de angiocentricidad en algunos casos. El infiltrado linfoide comprende células NK que son positivas para CD56, cCD3, marcadores citotóxicos y EBER (Figura 3C, D).

También suelen estar presentes células T reactivas. La clonalidad de las células NK esdifícil de establecer, pero las alteraciones cariotípicas se asocian con un mayor riesgo de progresión a linfoma/leucemia.

**LINFOMA SISTÉMICO DE CÉLULAS T VEB+ DE LA INFANCIA**

Se trata de una enfermedad fulminante y potencialmente mortal con un curso clínico de rápida progresión que puede durar desde días hasta semanas. Los pacientes presentan fiebre, hepatoesplenomegalia, síndrome hemofagocítico, pancitopenia y coagulopatía, que a menudo resultan rápidamente en insuficiencia multiorgánica y muerte. Puede

surgir de novo después de una infección primaria por VEB o en el contexto de CAEBV-T/NK sistémica. Los casos informados en el pasado como trastorno linfoproliferativo de células T EBV-positivo fulminante, CAEBV grave, mononucleosis infecciosa mortal y síndrome hemofagocítico asociado a VEB, ahora se consideran equivalentes al linfoma sistémico.

Como enfermedad sistémica, hay infiltración de linfocitos T morfológicamente pequeños y con escasa atipia en el hígado, el bazo, la médula ósea, la piel y los pulmones. La pulpa roja esplénica y las zonas paracorticales de los ganglios linfáticos se expanden mientras que la pulpa blanca esplénica se agota y los folículos presentan aspectos regresivos. Dada la falta de atipia citológica en la mayoría de los casos, se necesita inmunohistoquímica para identificar las células T, a menudo de tamaño pequeño a mediano,con un patrón sinusoidal de infiltración en la médula ósea, elhígado y el bazo. Se han descrito casos con linfocitos más grandes, pleomórficos y atípicos. El fenotipo de la proliferación de células T tiende a ser CD2+, CD3+,CD56–, y TIA1+. Los casos que surgen de novo suelen ser CD8+, mientras que los que se presentan en el contexto de CAEBV tienden a ser CD4+. La ISH confirma la expresión de EBER en la mayoría de los linfocitos infiltrantes. La mayoría de los casos se asocian a una proliferación clonal de células T, aunque se han descrito casos policlonales con una presentación clínica similar. Por esta razón, es crucial correlacionar los hallazgos histológicos y moleculares con las características clínicas para la clasificación adecuada de este grupo de enfermedades. Aunque no se han identificado anomalías cromosómicas consistentes, un estudio demostró que los casos con alteraciones cariotípicas eran uniformemente fatales en comparación con una tasa de fatalidad del 62 % en los casos con solo evidencia de clonalidad de células T.

**Bibliografía**


1. Hong M, Ko YH, Yoo KH, Koo HH, Kim SJ, Kim WS, et al. EBV-Positive T/NK-cell lymphoproliferative disease of childhood. Korean J Pathol. 2013;47:137–47.

2. Kimura H, Hoshino Y, Kanegane H, Tsuge I, Okamura T, Kawa K, et al. Clinical and virologic characteristics of chronic active Epstein-Barr virus infection. Blood 2001;98:280–6.

3. Liu Y, Ma C, Wang G, Wang L. Hydroa vacciniforme-like lymphoproliferative disorder: Clinicopathologic study of 41 cases. J Am Acad Dermatol. 2019;81:534–40.

4. Cohen JI, Iwatsuki K, Ko YH, Kimura H, Manoli I, Ohshima K, et al. Epstein-Barr virus NK and T cell lymphoproliferative disease: report of a 2018 international meeting. Leuk Lymphoma. 2020;61:808–19.

5. Isobe Y, Aritaka N, Setoguchi Y, Ito Y, Kimura H, Hamano Y, et al. T/NK cell type chronic active Epstein-Barr virus disease in adults: an underlying condition for Epstein-Barr virus-associated T/NK-cell lymphoma. J Clin Pathol. 2012;65:278–82.

6. Cohen JI, Manoli I, Dowdell K, Krogmann TA, Tamura D, Radecki P, et al. Hydroa vacciniforme-like lymphoproliferative disorder: an EBV disease with a low risk of systemic illness in whites. Blood 2019;133:2753–64.

7. Kimura H, Ito Y, Kawabe S, Gotoh K, Takahashi Y, Kojima S, et al. EBV-associated T/NK-cell lymphoproliferative diseases in nonimmunocompromised hosts: prospective analysis of 108 cases. Blood 2012;119:673–86.

8. Quintanilla-Martinez L, et al. Hydroa vacciniforme-like lymphoma: a chronic EBV+ lymphoproliferative disorder with risk to develop a systemic Lymphoma. Blood. 2013 Oct 31;122(18):3101-10. doi: 10.1182/blood-2013-05-502203.

9. Coffey et al. A clinicopathologic study of the spectrum of systemic forms of EBV-associated T-cell lymphoproliferative disorders of childhood: A single tertiary care pediatric institution experience in North America. Pediatr Blood Cancer. 2019 Aug;66(8):e27798. doi: 10.1002/pbc.27798.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL:
# Linfomas primarios cutáneos

**Socorro María Rodríguez Pinilla**
*Servicio de Anatomía Patológica, Fundación Jiménez Díaz, Madrid*

Linfoma primario cutáneo es el que infiltra de forma primaria la piel. Tanto los linfomas B como los linfomas T sistémicos pueden infiltrar secundariamente la piel y adoptar cualquier patrón morfológico de infiltración por lo que siempre deben ser excluidos mediante un adecuado estudio clínico.

## LINFOMAS T PRIMARIOS CUTÁNEOS

Representan el 70 % de los linfomas primarios cutáneos, siendo la micosis fungoides (MF) y sus variantes el tipo más frecuente (~40 %) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Clasificación de los linfomas T y NK primario cutáneos según la WHO-EORTC. *La frecuencia dada se refiere a la totalidad de los linfomas primarios cutáneos B y T.

| Linfomas T/NK primario cutáneos | Frecuencia (%)* |
|---|---|
| **Curso clínico indolente:** | |
| Micosis fungoides | 44 |
| Subtipos y variantes de Micosis fungoides | 6 |
| Linfoma primario cutáneo de linfocitos T CD4-positivos de pequeño-mediano tamaño | 1 |
| Proceso linfoproliferativo primario cutáneo acral de linfocitos T CD8-positivos | <1 |
| Linfoma NK/T tipo hydroa vacciniforme | <1 |
| Desordenes linfoproliferativos CD30+ primario cutáneos | |
| -Linfoma anaplásico de células grandes CD30+ primario cutáneo | 8 |
| -Papulosis Linfomatoide. | 12 |
| **Curso clínico agresivo:** | |
| Síndrome de Sézary | 3 |
| Linfoma primario cutáneo de células NK/T de tipo nasal | <1 |
| Linfoma T citotóxico CD8-epidermotropo agresivo primario cutáneo | <1 |
| Linfoma T primario cutáneo γ/δ | <1 |
| Linfoma T periférico no especificado primario cutáneo | 2 |

## LINFOMAS T PRIMARIOS CUTÁNEOS: MICOSIS FUNGOIDES (MF)

El diagnóstico de MF debe restringirse a aquellos pacientes que cursen con historia de lesiones en forma de mancha, placa y finalmente en algunos casos nódulos/tumores. Es más frecuente en adultos, generalmente varones, aunque se ha descrito en niños. El curso clínico es variable, aunque por lo general, prolongado produciéndose ocasionalmente en estadios avanzados afectación ganglionar y visceral (hígado, bazo, pulmón y sangre periférica, principalmente). La afectación de sangre periférica puede observarse en todos los estadios clínicos. Solo cantidades de linfocitos con criterios de Sézary tienen actualmente significado clínico (B2). Existen casos de MF eritrodermica en estadio tumoral o no tumoral.

Histológicamente se caracteriza por un infiltrado epidermotropo de linfocitos pequeños con escasa atipia citológica que forman cúmulos intraepidérmicos (abscesos de Pautrier). Los linfocitos tumorales suelen expresar CD4 y en la mayoría de los casos hay pérdida de CD7. Se han descrito casos con expresión de CD8, que suelen presentarse en forma de manchas o placas hipo o hiperpigmentadas así como casos con expresión de CD56, TCRγ y otros con ausencia de expresión de CD4 y CD8. Estos subtipos inmunofenotípicos no suelen presentar diferente comportamiento biológico.

En estadios iniciales el infiltrado linfoide se dispone principalmente en banda en dermis superficial y tanto la atipia citológica como el epidermotropismo pueden ser muy sutiles haciendo muy complicado el diagnóstico. No suele observarse pérdida de expresión de marcadores T ni reordenamientos clonales del gen TCR. A medida que las lesiones se vuelven más tumorales, se pierde el epidermotropismo, el infiltrado dérmico es más denso y difuso y disminuye el componente de células reactivas mientras que las tumorales aumentan en número. Puede observarse transformación histológica, definida como la presencia de más de un 25 % de células grandes de aspecto blástico. Estas células pueden ser CD30-positivas o CD30-negativas. Esto es más común en fases tumorales de MF. Puede adquirirse la expresión de marcadores citotóxicos. En casos de positividad para CD30 se requiere hacer el diagnóstico diferencial con otras entidades del espectro de los desórdenes linfoproliferativos cutáneos CD30 positivos.

Variantes de MF:

- **MF folículotropa:** No siempre se observa mucinosis folicular. Actualmente se identifican dos subgrupos clinico-patologicos con diferente comportamiento biológico.
- **MF granulomatosa:** Se asocia con granulomas de tipo sarcoideo o con patrones de infiltración tipo granuloma anular. Las células multinucleadas gigantes destruyen y fagocitan las fibras elásticas. No siempre se observa epidermotropismo (50 %). Curso clínico más agresivo que la variante clásica.
- **Síndrome de piel laxa granulomatosa:** Histológicamente es indistinguible de la MF granulomatosa y se caracteriza por la aparición de una piel laxa y colgante en los grandes pliegues cutáneos y por un curso clínico muy benigno.
- **Reticulosis pagetoide:** El término se restringe a lesiones únicas en placa de crecimiento lento y progresivo. Se observa un llamativo epidermotropismo por linfocitos con halo claro. Se han descrito casos con expresión de CD4, CD8 e incluso CD30. El pronóstico es muy bueno.

## LINFOMAS T PRIMARIOS CUTÁNEOS: SÍNDROME DE SÉZARY (SS)

Es una forma rara de linfoma T primario cutáneo (representa el 3 % de todos los linfomas primario cutáneos). Se caracteriza clínicamente por la presencia de eritrodermia, alopecia, hiperqueratosis palmo-plantar y linfadenopatías. Tan sólo en un 40 % de los casos se observan imágenes de linfocitos atípicos con epidermotropismo por lo que la biopsia cutánea no siempre es del todo útil para el diagnóstico. La mayoría de los autores coinciden en que es necesaria la presencia de >1000 células atípicas con núcleos cerebriformes (células de Sézary o células de Lutzner) en sangre periférica para hacer el diagnóstico de SS; si bien, aún no existen criterios diagnósticos consensuados. El pronóstico es

muy malo, con una supervivencia media de 2-4 años. El diagnostico diferencial con eritrodermias no tumorales puede ser muy difícil (véase LIBRO BLANCO, capitulo de pseudolinfomas en Dermatopatologia)

## LINFOMAS T PRIMARIOS CUTÁNEOS: PROCESOS LINFOPROLIFERATIVOS PRIMARIO CUTÁNEOS CD30-POSITIVOS

Incluye un espectro clinicopatológico en el que la clasificación de la WHO-EORTC reconoce tres subgrupos:

### Linfoma anaplásico de células grandes primario cutáneo (LACGPC)

Aparece principalmente en pacientes varones adultos, aunque está descrita en niños. Normalmente se trata de una lesión única o de lesiones múltiples localizadas en forma de pápulas o nódulos que frecuentemente se ulceran. A veces regresan espontáneamente tras un periodo medio de 2 meses (23-44 % de los casos). Ocasionalmente pueden presentar recidivas cutáneas (~39 % de los casos). La presencia de lesiones multifocales se ha descrito en el 20 % de los pacientes. La afectación ganglionar locorregional se observa en un 10 % de los casos y no parece tener implicaciones pronósticas. El pronóstico es muy bueno, con una supervivencia global a los 5 años del 76-96 %.

Morfológicamente se caracterizan por una proliferación difusa de células grandes anaplásicas que afecta la dermis y en muchas ocasiones el tejido celular subcutáneo con expresión de CD30 en más de un 75 % de las mismas. Es rara la presencia de epidermotropismo. El infiltrado linfo-leucocitario reactivo acompañante es muy escaso. Se ha descrito una variante intrasinusoidal que requiere hacer el diagnostico diferencial con el linfoma intravascular.

La mayoría de los casos expresa CD4 y marcadores citotóxicos (TIA-1, granzima, perforina) y suelen perder CD2, CD5, CD7 y/o CD3. Un 5 % de los casos expresa CD8. De forma ocasional se han descrito casos doble CD4/CD8 negativos.

### Papulosis linfomatoide (PL)

La PL se define como un proceso crónico, recurrente y autolimitado de afectación cutánea y en ocasiones de mucosas constituido por una proliferación de células grandes, anaplásicas, de aspecto inmunoblástico o de tipo Hodgkin con abundante infiltrado inflamatorio. Aparece principalmente en adultos de sexo masculino aunque también ha sido descrita en niños. Clínicamente se caracteriza por la aparición en brotes de múltiples pápulas, o nódulos, en tronco y extremidades en diferentes estadios evolutivos (pápula, necrosis, escara) que regresan espontáneamente tras 3-12 semanas dejando cicatrices hiperpigmentadas. Cada vez se describe un mayor numero de patrones de infiltración cutáneas que definen los distintos tipos, algunos con alteraciones citogenéticas características (i.e DUSP22). Los diferentes patrones morfológicos no tienen implicación pronostica, pero se requiere hacer diagnostico diferencial con otros procesos de curso clínico más agresivo. Asi, la tipo B con la MF, la tipo D con el LTC-CD8EA-PC, la tipo E con el LNK/TEGN, entre otros.

### Lesiones mal definidas entre estas dos entidades («lesiones borderline»).

**LINFOMAS T PRIMARIOS CUTÁNEOS: LINFOMA T SUBCUTÁNEO DE TIPO PANICULÍTICO (LTSP)**

Puede aparecer en adultos o niños, frecuentemente mujeres. Se caracteriza por la aparición de nódulos o placas únicas o múltiples generalmente en tronco y extremidades. Se ulceran con frecuencia. Es rara la afectación extracutánea. Es frecuente la aparición de síntomas sistémicos aunque el síndrome hemofagocítico (SHF) solo ocurre en un 15 % de los casos. Un 20 % de los pacientes presentan algún tipo de enfermedad autoinmune, especialmente lupus eritematoso sistémico. El curso clínico es, por lo general, poco agresivo, especialmente si no presentan SHF.

Histopatológicamente es una proliferación exclusivamente subcutánea por células neoplásicas de diferente tamaño y atipia citológica que se disponen alrededor de adipocitos de forma individual. Es frecuente la necrosis, la cariorexis y la presencia de histiocitos.

El estudio IHQ muestra una proliferación de linfocitos T-citotóxicos frecuentemente CD8 que expresan fenotipo TCRαβ (TCRBF1 mediante IHQ) y que, con frecuencia muestran un alto índice proliferativo (Ki67) en torno a vacuolas adiposas. Es poco frecuente la positividad con CD30 o CD56.

**LINFOMAS T PRIMARIOS CUTÁNEOS: LINFOMA T GAMMA-DELTA PRIMARIO CUTÁNEO (LTGDPC)**

Suelen debutar en forma de placas, nódulos o tumores úlcero-necróticos diseminados o en miembros inferiores en pacientes adultos añosos sin predilección de sexo. La afectación mucosa es frecuente. Es frecuente una rápida diseminación sistémica, aunque la afectación ganglionar y de la médula ósea es rara. Suelen presentar síntomas sistémicos y SHF, especialmente los pacientes con tumores con predominio de afectación paniculítica. Es un linfoma altamente resistente a la poliquimioterapia con muy mal pronóstico, especialmente los casos con afectación del tejido celular subcutáneo. La supervivencia media es inferior a 15 meses.

El patrón de afectación puede ser dérmico, intraepidérmico o subcutáneo. Dichos patrones pueden aparecer individualmente o en combinación. Las células tumorales también pueden presentar distintos grados de atipia morfológica.

Las células tumorales expresan CD3, TCRγδ (TCRγ y/o TCRδ mediante IHQ) y marcadores citotóxicos. La presencia de CD56 es frecuente. Suelen ser CD4/CD8 doble negativos o CD8-positivos. EBV es negativo.

Estudios recientes sugieren una diferente etiopatogenia para los procesos intradermicos-dermicos frente a los paniculiticos, el perfil de expresion genica de estos procesos es diferente aunque comparten un mismo perfil mutacional. SE consideran de significado pronostico la presencia de mutaciones en genes de la vía RAS. Se postula si los exclusivamente intraepidermicos forman parte del espectro de la MF o son una entidad en si misma

**LINFOMAS T PRIMARIOS CUTÁNEOS: LINFOMA T CITOTÓXICO CD8-EPIDERMOTRÓPICO AGRESIVO PRIMARIO CUTÁNEO (LTC-CD8EA-PC).**

Suele aparecer en forma de placas, pápulas, nódulos o tumores generalizados con frecuente ulceración. Suele afectar adultos sin predilección de sexo. El curso clínico es agresivo y suele metastatizar en mucosa oral, testículo, bazo, pulmón o SNC con poca afectación ganglionar. La supervivencia media es inferior a 3 años.

Las lesiones tempranas suelen presentar un patrón de infiltración intraepidérmico de tipo pagetoide. En las lesiones establecidas hay epidermotropismo marcado con necrosis de queratinocitos, espongiosis y ulceración. Suele observarse un patrón liquenoide y en banda en dermis superficial con frecuente destrucción de anejos pero sin angioinvasión, angiodestrucción o afectación de fascículos nerviosos. Se observa frecuente afectación de panículo adiposo.

Las células tumorales suelen expresar CD3, CD8, CD5, CD7, TCRBF1, TIA1. Suelen ser negativos con CD2, CD30, perforina y granzima. No se observa expresión de TCRγ ni EBV-EBER.

## LINFOMAS T PRIMARIOS CUTÁNEOS: LINFOMA T/NK EXTRAGANGLIONAR DE TIPO NASAL

Suele presentarse como múltiples placas o tumores, generalmente ulceradas en tronco y extremidades. Los pacientes son adultos, generalmente añosos y es más frecuente en individuos varones que provienen de Asia, Centro América o América del Sur. Se ha descrito de forma excepcional en niños. Suele presentar síntomas sistémicos y frecuentemente SHF.

Las células tumorales son de tamaño y morfología variable. Se disponen generalmente de forma difusa en dermis y tejido celular subcutáneo, aunque también pueden presentar epidermotropismo. Es muy característica la presencia de angiodestrucción con extensas áreas de necrosis. En ocasiones se observa abundantes células acompañantes de carácter reactivo constituidas por leucocitos, histiocitos y plasmáticas.

Las células neoplásicas son característicamente citotóxicas y expresan EBV-EBER. Suelen presentar expresión de CD3 citoplasmático y CD56 y no suelen expresar CD4 ni CD8. La expresión de TCRBF1 y TCRγ es variable y de significado clínico impreciso en este grupo.

## LINFOMAS T PRIMARIOS CUTÁNEOS: LINFOMA T/NK DE TIPO HYDROA-VACCINIFORME

### Forma clasica

Mas frecuente en niños de raza blanca. Lesiones autoresolutivas en zonas fotoexpuestas, principalmente la cara. Son lesiones tipo vesicula, superficiales que no dejan cicatriz residual. Puede observarse celulas EBER positivas en el liquido de las vesiculas.

### Forma sistémica

Forma parte del espectro de lesiones relacionadas con infección crónica por EBV y se relaciona con hipersensibilidad a picaduras de insectos. Se presenta en niños de origen asiático, México, centro América y América del sur. Se caracteriza por la presencia de lesiones en forma de vesículas que evolucionan a pápulas, se ulceran y dejan cicatriz residual. Tienen un curso clínico autoresolutivo y recurrente durante mucho tiempo hasta que finalmente desarrollan afectación sistémica por linfoma. La afectación cutánea ocurre en áreas foto y no fotoexpuestas. Las lesiones mucosas son frecuentes. Se asocian síntomas generales, fiebre, aumento de títulos de IgG frente a EBV y edema facial.

El fenotipo T es más frecuente (75 % de los casos), presenta más síntomas sistémicos y se asocia a mayor agresividad de las lesiones cutáneas. El fenotipo NK (25 % de los casos) aparece en pacientes más jóvenes, presenta un curso clínico más indolente pero mayor tendencia al desarrollo de linfomas NK de tipo nasal y leucemias NK.

El patrón histopatológico es variable con infiltración intraepidérmica (cúmulos de linfocitos pequeños con escasa atipia intraepidérmicos formando vesículas espongióticas), dérmica y perivascular (escasas células en dermis con ligero angiotropismo y destrucción de anejos) o bien extensa con áreas de ulceración epidérmica, infiltración de tejido celular subcutáneo, partes blandas y tejido muscular. En estadios avanzados se observa infiltración ganglionar por linfoma. El tamaño y la atipia citológica es variable y aumenta a medida que evoluciona la enfermedad.

Las células tumorales son EBV-EBER positivas con expresión de CD3 citoplasmático y marcadores citotóxicos. Pueden expresar CD56 y CD30. La expresión de CD4 y CD8 es variable siendo frecuentemente doble negativas. Se ha observado la expresión frecuente de TCRBF1 y en menor

medida de TCR-γ o la ausencia de expresión de ambos marcadores. Se observan abundantes células de hábito linfocitario negativas para EBV-EBER.

**PROCESO LINFOPROLIFERATIVO PRIMARIO CUTÁNEO T CD4-POSITIVO DE CELULAS PEQUEÑAS-MEDIANAS.**

Es un proceso linfoproliferativo que se presenta como nódulos únicos en región de cabeza, cuello y parte superior del tronco. Se han descrito casos con lesiones múltiples. Ocurren en adultos principalmente, aunque tambien han sido descrito en niños, y tienen un curso clínico benigno.

Histopatológicamente se observa una proliferación difusa dérmica de células de pequeño-mediano tamaño con no más de un 20 % de células grandes. Hay escaso folículotropismo, con presencia de «*Grenz zone*», escasos centros germinales reactivos de pequeño tamaño generalmente en áreas profundas y puede observarse abundante componente B reactivo acompañante, así como plasmáticas, eosinófilos, histiocitos y células gigantes multinucleadas.

Las células neoplásicas expresan CD3, CD4 y característicamente marcadores T de fenotipo centrofolicular como PD1, CXCL13, BCL6 y en ocasiones CD10. No suelen observarse restricción de cadenas ligeras en el componente linfoplasmocitario.

**PROCESO LINFOPROLIFERATIVO PRIMARIO CUTÁNEO ACRAL, T CD8-POSITIVO.**

Se han descrito en adultos, como lesiones únicas o múltiples, generalmente en partes acras. Se caracterizan por una proliferación difusa, monomorfa en banda en dermis superficial de células pequeñas medianas que expresan CD8, TIA1 y TCRBF1. Son Granzima negativas, No son CD30. Pueden perder marcadores T. Expresan CD68 en gota. El índice proliferativo es bajo.

Deben diferenciarse de los procesos CD8 asociados a inmunodeficiencia que característicamente presentan estructuras histiocitarias-granulomatosas.

## LINFOMAS B PRIMARIOS CUTÁNEOS

Representan el 30 % de los linfomas primarios cutáneos.

## LINFOMAS B PRIMARIOS CUTÁNEOS: LINFOMA B DE LA ZONA MARGINAL PRIMARIO CUTÁNEO (LMPC) TIPO MALT (OMS 2022). TRASTORNO LINFOPROLIFERATIVO DE TIPO MARGINAL PRIMARIO CUTANEO (ICC 2022).

Este tipo de linfomas suponen el 7 % de los linfomas primarios cutáneos. Son de muy buen pronóstico con una supervivencia global específica de enfermedad del 99-100 % a los 5 años. Suelen presentar recidivas ocasionales pero no suelen tener afectación extracutánea. Entre los pacientes con linfoma B de la zona marginal de presentación primaria cutánea tan sólo un 2 % presentan infiltración franca de la médula ósea, momento en el que dejan de considerarse cutáneos. Las lesiones pueden ser únicas o múltiples, en forma de pápulas, nódulos o placas principalmente en el tronco y extremidades. De forma inhabitual pueden tener un curso clínico intercurrente (aparición y desaparición de las lesiones espontáneamente). La desaparición espontánea puede asociarse con la aparición de anetodermia.

Histopatológicamente presentan un patrón de afectación dérmica difuso o pseudonodular constituido por folículos linfoides de centros germinales reactivos y expansión de linfocitos del área marginal que disecan los haces de colágeno. Se acompañan de un número variable de células dendríticas multinucleadas y blastos. Hay abundantes células de hábito linfoplasmocitiode o plasmáticas maduras en la periferia de la lesión y bajo la epidermis.

Las células neoplásicas del área marginal expresan CD20, CD79a y BCL2 y son CD10 y BCL6 negativas. Las células plasmáticas expresan CD138 y CD79a pero son CD20 negativas y presentan restricción de cadenas ligeras en el estudio inmunohistoquímico en el 75 % de los casos. Los linfocitos B del centro germinal de carácter reactivo expresan CD10 y BCL6 pero son BCL2 negativos. Se ha descrito positividad nuclear con BCL10 (46 % de los casos) y se asocia con tumores agresivos localmente. La expresion de CD30 se relaciona con una mayor tasa de recidivas.

Se describen dos subtipos:

- Con cambio de clase de las inmunoglobulinas (Igs) y expresión de IgG, principalmente IgG4; presenta abundantes linfocitos T reactivos acompañantes de fenotipo TFH2 y escasa células B neoplásicas.
- Sin cambio de clase de las Igs; expresan IgM, y suelen acompañarse de proliferaciones difusas de células B, expresión de CXCR3, y asociarse con infección por *Borrelia burgdorferi*.

## LINFOMAS B PRIMARIOS CUTÁNEOS: LINFOMA B CENTROFOLICULAR PRIMARIO CUTÁNEO (LCFPC)

Representan el 9-11 % de los linfomas primarios cutáneos. Frecuentemente se presentan como placas o tumores múltiples o solitarios en la región del tronco, de la cabeza o el cuello. A veces se presentan como placas eritematosas con nódulos sobre ellas («Linfoma de Crosti») y algunos pacientes presentan múltiples lesiones papulosas de pequeño tamaño alejadas 10-15 cm de la lesión principal.

El pronóstico es muy bueno, con una supervivencia global superior al 95 % a los 5 años. Los casos de presentación multifocal o de localización en piernas parecen tener peor pronóstico. Se ha descrito la progresión a linfoma B difuso de células grandes.

Histopatológicamente se definen como una proliferación de centrocitos y centroblastos que puede adoptar un patrón nodular, mixto (nodular y difuso) o difuso. Las células tumorales se acompañan de numerosas células T de carácter reactivo. Algunos LCFPCs presentan morfología fusocelular. A diferencia de los linfomas foliculares ganglionares los LCFPC no se gradan.

Las células tumorales expresan CD20 y CD79a. Son característicamente BCL6 positivos. Se observa positividad variable con CD10 en los de patrón de crecimiento nodular. No se observa expresión de MUM1.

La expresión de BCL2 está más restringida que la contrapartida ganglionar. Su presencia en más del 50 % de las células tumorales en LCFPC constituidos por células grandes y patrón de crecimiento difuso se asocia a peor pronóstico. En casos con una expresión intensa y difusa de BCL2, se debe descartar que se trate de una forma secundariamente cutánea de linfoma B folicular. La presencia de translocación entre los genes IgH@/BCL2 se detecta hasta en un 10-41 % de los LCFPCs. Sin embargo, se recomienda igualmente descartar clínicamente en estos casos afectación cutánea por un linfoma B folicular sistémico.

## LINFOMAS B PRIMARIOS CUTÁNEOS: LINFOMA B DIFUSO DE CÉLULAS GRANDES PRIMARIO CUTÁNEO DE TIPO PIERNAS (LBDCG-PCTP)

Representan el 4 % de los linfomas primarios cutáneos. Son linfomas agresivos con una supervivencia a los 5 años del 55 %. Se presentan característicamente en las piernas, aunque no son exclusivos de esta localización (15-20 % otra localización). Son más frecuentes en personas añosas y frecuentemente mujeres. Suelen cursar en forma de nódulos únicos o múltiples, uni o bilaterales. Presentan rápido crecimiento y gran tendencia a la diseminación extracutánea (50 %), principalmente a ganglios locorregionales.

Histopatológicamente se caracterizan por un infiltrado difuso dérmico de células de mediano-gran tamaño y aspecto inmunoblástico o centroblástico que frecuentemente alcanzan el tejido celular subcutáneo y respetan la epidermis. No se observan células B de pequeño tamaño y el componente reactivo de fenotipo T es muy escaso y frecuentemente limitado al área perivascular.

Las células tumorales expresan CD20, CD79a y BCL2. Pueden expresar CD10 y BCL6. De forma característica presentan expresión de IgM, MUM1 y FOXP1 en la mayoría de los casos. La mutación L265P de MYD88 se encuentra en un porcentaje variable de casos de LBDCG-PCTP según las series (33-61 %).

## LINFOMAS B PRIMARIOS CUTÁNEOS: OTROS TIPOS/SUBTIPOS DE LINFOMAS B DIFUSOS DE CÉLULAS GRANDES (LBDCG) (MUY INFRECUENTES)

Se han descrito principalmente y representan la afectación cutánea por un linfoma sistémico en la mayoría de los casos, Linfomas B con características intermedias entre linfomas de Burkitt y linfoma B difuso de células grandes, Linfoma primario de cavidades extracavitario, Linfomas plasmablásticos, Linfoma B rico en células T, Linfomas asociados a inmunosupresión (asociados a la edad avanzada, uso de metrotexato y procesos linfoproliferativos de tipo úlcera-mucocutánea), Granulomatosis linfomatoide, Linfoma B linfoblástico.

El linfoma B intravascular aunque normalmente es multisistémico (suele afectar al sistema nervioso central y pulmón) puede tener un patrón de afectación exclusivamente cutánea. Se caracteriza por la presencia de células neoplásicas grandes en el interior de la luz de estructuras vasculares de pequeño-mediano calibre en dermis o tejido celular subcutáneo. Clínicamente se caracteriza por la aparición de manchas o placas violáceas o lesiones de tipo telangiectásico en piel de extremidades inferiores o tronco. Se ha descrito la colonización exclusiva de tumores vasculares benignos (hemangiomas) y la extravasación de escasas células tumorales a dermis perivascular. Aunque requiere tratamiento quimioterápico es de mejor pronóstico que el de presentación sistémica. Demostrar el inmunofenotipo B es esencial para descartar otros procesos neoplásicos con similar presentación clínico-patológica como el LACGPC o Linfoma T/NK de tipo nasal.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

**Biopsia incisional o escisional cutánea** que incluya epidermis, dermis y tejido adiposo.

**Biopsia-cilindro de médula ósea:** Su indicación es controvertida en linfomas T de curso clínico indolente y en Linfoma B de la zona marginal primario cutáneo. En los linfomas B y T agresivos está indicada como método de estadiaje.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

Los casos de linfomas cutáneos plantean diagnóstico diferencial histopatológico con una amplia variedad de procesos no neoplásicos. Entre ellos se destacan:

- MF en estadio inicial versus procesos inflamatorios (eccema, psoriasis, etc.) versus reacción a fármacos.
- MF CD8-positiva vs vitíligo.
- MF granulomatosa vs procesos inflamatorios de carácter granulomatoso (tuberculosis, hongos, sarcoidosis, granuloma anular, etc.)
- LACGPC con abundante componente inflamatorio vs PL vs procesos virales, pioderma, reacción a fármacos, etc.
- La variante hiperplásica pseudoepiteliomatosa de LACGPC debe diferenciarse de carcinomas epidermoides.
- LTSP vs paniculitis lúpica. Este diagnóstico diferencial es especialmente difícil en niños.
- LMPC y LCFPC vs Hiperplasia folicular cutánea.

Este diagnóstico diferencial debe tener en cuenta principalmente características clínicas de la enfermedad y debe realizarse una adecuada correlación clínico-patológica. En caso de sospecha de proceso linfoproliferativo es preciso realizar un estudio IHQ apropiado y estudios moleculares en casos seleccionados.

## PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ) E HIBRIDACIÓN IN SITU CROMOGÉNICA (HIS-C)

Dado el amplio espectro de LPC se aconseja inicialmente definir si se trata de un proceso B o T y posteriormente según el patrón morfológico y las características clínicas del paciente ampliar la batería de marcadores inmunohistoquímicos.

**Panel de primera línea:** CD45 (ALC), CD20, CD3, CD4, CD8, CD30, ki67.

**Paneles de segunda línea:**

Línea T: CD5, CD7, TCRBF1, TCR-γ, TCR-δ, CD56, ALK, EBV-EBER, PD1.

Línea B: BCL2, BCL6, CD10, κ, λ, MUM1.

**Paneles de tercera línea:** TdT, TCL1, CD123, CD68, FOXP3, CD25.

Si el caso no es claramente tipificable con los estudios previos considerar infiltrados de tipo leucémico (leucemia cutis, neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas), linfoma linfoblástico, leucemia T-prolinfocítica y leucemia-linfoma T del adulto.

## CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

Se recomienda la determinación molecular de clonalidad linfoide de Ig y TCR mediante PCR como método complementario al diagnóstico y evaluación de recidivas (véase apartado de diagnóstico molecular). Se debe tener en cuenta que en estadios iniciales de la MF debido a la escasez de infiltrado tumoral pueden no encontrarse reordenamientos clonales de los genes de TCR. A su vez, se pueden

encontrar reordenamientos clonales T en algunos procesos de carácter reactivo. Ocasionalmente, en algunos procesos neoplásicos de estirpe T/NK el estudio molecular muestra un patrón policlonal del gen TCR.

Se observan reordenamientos clonales de los genes de Ig en la mayoría de los linfomas B primario cutáneos (80-83 % de los LMPC; un 91-100 % de los LCFPC y en un 100 % de los LBDCG-PCTP). Sin embargo, se han descrito también en un 4-22 % de los infiltrados reactivos B de carácter no neoplásico. Se encuentran a su vez reordenamientos clonales T hasta en un 35 % de los casos de linfoma B de la zona marginal primario cutáneo.

Se ha descrito la presencia de la translocación del locus 6p25.3 afectando al gen *DUSP22-IRF4* en un 20-57 % de los LACGPC, en un subgrupo de PL con patrón morfologico bifásico, en un 8 % de linfomas T periféricos sin rasgos específicos y en un 30 % de linfomas T anaplasicos sistemicos ALK-negativos.

En los LMPC se han descrito traslocaciones afectando a las cadenas pesadas de las IgGs (IGH) y a los genes MALT y FOXP1, respectivamente; t(14;18)(q32;q21) y t(3,14)(p14.1;q32), respectivamente. No se han encontrado reordenamientos similares a los descritos en el linfoma del área marginal (MALT) de tipo gástrico,t(11;18)(q21;q21) o t(1;14)(p22;q32).

La presencia de translocación entre los genes IgH@/BCL2 se detecta hasta en un 10-41 % de los casos de LCFPC. Sin embargo, se recomienda descartar en estos casos afectación cutánea por un linfoma folicular sistémico.

Se ha demostrado de forma frecuente translocación de los genes CMYC y BCL6 y amplificación de los genes BCL2 y MALT1 en LBDCG-PCTP. La mutación L265P de MYD88 se encuentra en un porcentaje variable de casos de LBDCG-PCTP según las series (33-61 %).

**RECOMENDACIONES**

1. La biopsia incisional amplia y escisional incluyendo epidermis y tejido celular subcutáneo de la lesión cutánea es el método de elección para el diagnóstico inicial de los casos con sospecha de proceso linfoproliferativo primariamente cutáneo. Las biopsias tipo «punch» no son adecuadas para el diagnóstico. Grado C. Evidencia nivel IV.

2. Se deben descartar procesos reactivos que simulan linfomas; vitíligo, paniculitis lúpica, cambios secundarios a fármacos, infecciones virales, etc. Grado C. Evidencia nivel IV.

3. Se recomienda estudio histopatológico convencional con H-E y un panel inmunohistoquímico básico que incluya marcadores B y T para el diagnóstico inicial. Grado C. Evidencia nivel IV.

4. Panel de primera línea: CD45 (ALC), CD20, CD3, CD4, CD8, CD30, ki67. Grado C. Evidencia nivel IV

   Panel de segunda línea: Grado C. Evidencia nivel IV.

   - Línea T: CD5, CD7, TCRBF1, TCRγ, CD56, ALK, EBV-EBER, PD1.
   - Línea B: BCL2, BCL6, CD10, κ, λ, MUM1.

5. La presencia de clonalidad en el estudio molecular mediante PCR de los genes Ig y TCR es un dato a favor del diagnóstico de linfoma en un contexto clínico morfológico y fenotípico adecuado. Su ausencia no excluye el diagnóstico de proceso linfoproliferativo y su presencia aislada, en ausencia de otros datos clínicos y anatomopatológicos, no es suficiente. Grado C. Evidencia nivel IV.

6. Se recomienda incluir dentro del grupo de linfomas primarios cutáneos T o B no clasificables aquellos casos que no cumplan los criterios establecidos para las diferentes entidades descritas por la WHO-EORTC. Grado C. Evidencia nivel IV.

7. Se recomienda realizar análisis de traslocaciones de DUSP22 (6p25) mediante FISH en los casos de procesos linforpoliferativos T cutáneos CD30+ (Papulosis linfomatoide y LACG), especialmente en los casos que planteen diagnostico diferencial con fase tumoral de MF. Grado C. Evidencia nivel IV

8. Es preciso tratar de establecer una buena correlación clínico patológica en cada caso para una correcta clasificación del mismo según la OMS/ICC. Grado C. Evidencia nivel IV.

**REFERENCIAS**

1. Quintanilla-Martinez L, Jansen PM, Kinney MC, et al. Non-mycosis fungoides cutaneous T-cell lymphomas: report of the 2011 Society for Hematopathology/European Association for Haematopathology workshop. Am J Clin Pathol. 2013;139:491-514.

2. Swerdlow SH, Quintanilla-Martinez L, Willemze R, et al. Cutaneous B-cell lymphoproliferative disorders: report of the 2011 Society for Hematopathology/European Association for Haematopathology workshop. Am J Clin Pathol. 2013;139:515-535.

3. Senff NJ, Hoefnagel JJ, Jansen PM, et al. Reclassification of 300 primary cutaneous B-Cell lymphomas according to the new WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas: comparison with previous classifications and identification of prognostic markers. J Clin Oncol. 2007;25:1581-1587.

4. Burg G, Kempf W, Cozzio A, et al. WHO/EORTC classification of cutaneous lymphomas 2005: histological and molecular aspects. Journal of cutaneous pathology. 2005;32:647-674.

5. Willemze R, Jaffe ES, Burg G, et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. Blood. 2005;105:3768-3785.

6. Wilcox RA. Cutaneous B-cell lymphomas: 2013 update on diagnosis, risk-stratification, and management. Am J Hematol. 2013;88:73-76.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Neoplasias de células histiocíticas y de células dendríticas

**Olga Balagué**
*Unidad de Hematopatología, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clinic, Barcelona*

## DEFINICIÓN Y FRECUENCIA DE LA ENTIDAD

Las neoplasias de células dendríticas e histiocitarias son el grupo de tumores hematolinfoides menos frecuentes de todos, representando <1 % de los tumores que se presentan en ganglios linfáticos y partes blandas. Dentro de este grupo se incluyen principalmente el sarcoma histiocítico, los tumores derivados de células de Langerhans, el sarcoma de células dendríticas interdigitantes y el sarcoma de células foliculares dendríticas.

Estas neoplasias pueden aparecer en cualquier edad, sin embargo, son más frecuentes en la edad adulta (40-50 años). La etiología es desconocida en la mayoría de los casos, con excepción de algunos casos de sarcomas de células foliculares dendríticas que se desarrollan sobre enfermedad de Castleman hialino-vascular y en las variantes tipo pseudotumor inflamatorio en que el virus de Epstein-Barr juega un papel importante, pues se ha demostrado que está en forma monoclonal en virtualmente todas las células neoplásicas.

La mayoría de estos tumores se presentan como linfadenopatía indolora aislada o bien como masa de partes blandas y tienen un pronóstico variable en función de la entidad, siendo los sarcomas de células foliculares dendríticas los de curso clínico más indolente y los sarcomas histiocíticos y los sarcomas de células de Langerhans los de peor pronóstico con una mortalidad alrededor del 50 %.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de estas entidades se basa principalmente en el estudio morfológico e inmunofenotípico, siendo por tanto la **biopsia escisional** del tejido extraganglionar o del ganglio linfático afectado el procedimiento diagnóstico de elección. Sin embargo, cuando el contexto clínico del paciente no permita el estudio completo de la masa/ganglio afecto, una **biopsia con aguja gruesa (BAG)** con material suficiente para poder realizar un estudio inmunohistoquímico amplio podría estar indicado.

Es necesaria la realización de una **biopsia medular** para el correcto estadiaje del paciente. En casos con sospecha de sarcoma histiocítico, una afectación difusa de la médula nos tendría que hacer considerar también el diagnóstico de leucemia monocítica aguda, ya que cuando estos tumores afectan la médula, normalmente es de forma parcheada.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

Para el adecuado diagnóstico de las neoplasias de células histiocitarias y dendríticas, es necesario no solamente el estudio morfológico sino también un panel inmunohistoquímico amplio para descartar las principales entidades con las que hay que establecer el diagnóstico diferencial.

**Proliferaciones histiocitarias reactivas:** en este caso el diagnóstico es puramente morfológico. Citológicamente el sarcoma histiocítico tiene características evidentes de malignidad a diferencia de los núcleos ovales, con cromatina fina que encontramos en las proliferaciones histiocitarias reactivas.

**Sarcoma histiocítico:** Por definición tiene que existir:

- Expresión de **uno o más** marcadores de diferenciación histiocitaria, incluyendo
  - CD163 (tinción de membrana y/o de citoplasma),
  - CD68 (clones KP1 y PGM1) (tinción granular de citoplasma y/o patrón de Golgi)
  - Lisozima (tinción granular de citoplasma y/o patrón de Golgi).
- **Ausencia** de marcadores de
  - Células de Langerhans (CD1a*, langerina)
  - Células Foliculares dendríticas (CD21, CD35, CD23)
  - Células Mieloides (CD33, CD13, Mieloperoxidasa)
  - Epiteliales (pancitoqueratinas, EMA)
  - Melanocíticos (HMB45, MelanA)

Puede existir expresión focal de CD15, S100, CD45, CD45RO, HLA-DR. CD4 es generalmente positivo.

* Existe algún caso descrito con expresión focal y débil.

**Sarcoma de células foliculares dendríticas:** Para un diagnóstico de seguridad hay que demostrar positividad para uno o más marcadores de células foliculares dendríticas (CD21, CNA42, CD35 o CD23), aunque a veces la positividad es solamente focal, especialmente en las variantes más agresivas o en las pseudotumor inflamatorio-like. Otros marcadores que suelen ser positivos son CXCL13, EGFR, Vimentina y fascina. Hay que tener en cuenta que también pueden ser positivos, aunque de manera focal, CD68, EMA, S100, CD20, CD45 o queratinas.

**Sarcoma de células dendríticas interdigitantes:** Las células expresan intensa e invariablemente S100 siendo negativas para langerina. Otros marcadores que pueden ser positivos son vimentina, HLA-DR y fascina. CD68 también puede ser positivo. Los marcadores de células foliculares dendríticas (CD21, CD35 y CD23), mieloperoxidasa y CD34 son negativos. CD1a aunque generalmente negativo, se ha reportado algún caso con positividad focal y débil.

**Histiocitosis de células de Langerhans y Sarcoma de células de Langerhans:** Las células de Langerhans son positivas para CD1a, proteína S100 y/o langerina aunque en casos de SCL la tinción puede ser focal o débil.

Otros marcadores que pueden ser positivos son HLA-DR, CD68, CD45, Vimentina y Lisozima. Los marcadores de células foliculares dendríticas son negativos (CD21, CD23, CD35). Para diferenciar el SCH de la HCL es importante la morfología ya que las HCL las células de Langerhans son citológicamente «benignas» y se acompaña frecuentemente de eosinófilos. En casos de SCL el acompañamiento de eosinófilos está o bien ausente o estos son escasos. Aunque hay casos de HCL con tasas mitóticas altas, generalmente son bajas. Clínicamente puede existir superposición entre estas dos entidades ya que también existen casos de HCL con afectación multiorgánica.

**Leucemia monocítica:** A diferencia del SH, Generalmente tiene presentación sistémica y además expresa marcadores de diferenciación mieloide como CD33 y CD34.

**Otros** diagnósticos que hay que tener en cuenta ya que morfológicamente pueden remedar neoplasias histiocitarias/dendríticas son el linfoma difuso de células grandes B, los linfomas anaplásicos,

el melanoma o casos de carcinomas indiferenciados. Sin embargo, el estudio inmunohistoquímico nos permitirá en cualquiera de estos casos llegar al diagnóstico definitivo.

## PANELES DE IHQ

El abordaje de las neoplasias histiocitarias/dendríticas debe incluir un panel inmunohistoquímico amplio, en primer lugar, descartar neoplasias más frecuentes que morfológicamente pueden ser similares y, en segundo lugar, incluir otra serie de marcadores para la mejor subclasificación de las diversas entidades.

Los marcadores de origen histiocitario/dendrítico que se recomienda utilizar en primer lugar son CD68 (clones PGM1 y/o KP1), CD1a, lisozima, S100, CD21 y CD23. De este modo podemos subclasificar alrededor del 90 % de los casos.

Otros marcadores que serían de utilidad para el 10 % restante serían CD163, langerina, CD35.

## CITOGENÉTICA/MOLECULAR

Aunque todavía no existe ninguna alteración molecular recurrente reconocida en la última clasificación de la OMS (2022) para este tipo de neoplasias, estudios recientes sugieren implicaciones importantes de la vía de BRAF en la patogénesis o en la transformación de las neoplasias de células histiocitarias y dendríticas. Así se ha encontrado la mutación BRAFV600E en histiocitosis de células de Langerhans (~60 %), sarcoma histiocítico (~60 %) y en la enfermedad de Erdheim-Chester (~60 %) (véase capítulo de molecular).

Además, estudios recientes, sugieren que los pacientes con mutaciones de BRAF podrían beneficiarse de tratamientos con inhibidores del mismo.

## RECOMENDACIONES

1. Se trata de entidades muy poco frecuentes y cuyo diagnóstico es de exclusión en la mayoría de los casos, de modo que para el adecuado diagnóstico es necesario un conocimiento del estado clínico y analítico del paciente, así como un extenso estudio morfológico e inmunohistoquímico para descartar otras entidades. Grado C. Evidencia nivel IV.

2. Panel de IHQ: CD68 (clones PGM1 y/o KP1), CD1a, lisozima, S100, CD21, CD23, CD163, langerina, CD35. El uso del panel de inmunohistoquímica propuesto, permitiría virtualmente la subclasificación de la gran mayoría de estas neoplasias. Sin embargo, se dispone también de otras técnicas como la microscopía electrónica que pueden ser de utilidad en determinados casos. Grado C. Evidencia nivel IV.

3. La aplicación de técnicas de patologia molecular (alteraciones vía MAPK) puede ser de utilidad para identificar marcadores de clonalidad y/o terapia dirigida en determinados casos. Grado C. Evidencia nivel IV.

4. Al tratarse de tumores de difícil abordaje diagnóstico, se recomienda la derivación del caso a hospitales con larga trayectoria y experiencia en el diagnóstico de neoplasias hematolinfoides. Grado C. Evidencia nivel IV

*Los autores desean agradecer a la Dra. Blanca González su colaboración en la redacción de este capítulo.

**Bibliografía**


1. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leukemia. 2022;36(7):1720-1748.
2. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. Blood. 2022;140(11):1229-1253.
3. Pileri et al. Histopathology 41, 1–29 (2002). Tumours of histiocytes and accessory dendritic cells: an immunohistochemical approach to classification from the International Lymphoma Study Group based on 61 cases.
4. Kairouz et al. Am J Hematol. 2007 Oct;82(10):924-8. Dendritic cell neoplasms: an overview.
5. Hornick JL et al. Am J Surg Pathol. 2004 Sep;28(9):1133-44. Extranodal histiocytic sarcoma: clinicopathologic analysis of 14 cases of a rare epithelioid malignancy.
6. Go H et al. Histopathology. 2014 Aug;65(2):261-72. Frequent detection of BRAF(V600E) mutations in histiocytic and dendritic cell neoplasms.
7. Bubolz AM et al. Oncotarget. 2014 Jun 30;5(12):4060-70. Potential clinical implications of BRAF mutations in histiocytic proliferations.
8. Haroche J, Charlotte F, Arnaud L, von Deimling A, Helias-Rodzewicz Z, Hervier B, et al. High prevalence of BRAF V600E mutations in Erdheim-Chester disease but not in other non-Langerhans cell histiocytoses. Blood. 2012 Sep 27;120(13):2700-3.
9. Mehes G, Irsai G, Bedekovics J, Beke L, Fazakas F, Rozsa T, et al. Activating BRAF V600E Mutation in Aggressive Pediatric Langerhans Cell Histiocytosis: Demonstration by Allele-specific PCR/Direct Sequencing and Immunohistochemistry. Am J Surg Pathol. 2014 Aug 12.
10. Badalian-Very G, Vergilio JA, Degar BA, MacConaill LE, Brandner B, Calicchio ML, et al. Recurrent BRAF mutations in Langerhans

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Proliferaciones linfoides no neoplásicas: Enfermedad de Castleman

**Santiago Montes Moreno**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IDIVAL, Santander*

## DEFINICIÓN

La enfermedad de Castleman (EC) es un proceso linfoproliferativo que cursa con adenopatías y que abarca un espectro de patologías de etiología diversa que comparten algunas manifestaciones clinicopatológicas. La EC se clasifica en EC unicéntrica (ECU) y EC multicéntrica (ECM) en función del número de territorios ganglionares afectos.

Un subconjunto de ECM es causado por el virus del herpes humano 8 (HHV8), otro está asociado con el síndrome de POEMS/neoplasia de células plasmáticas, mientras que los casos restantes de ECM son trastornos autoinmunes/autoinflamatorios o casos de origen desconocido o ECM idiopática (ECMi). Las neoplasias linfoides y otro tipo de neoplasias pueden asociarse a un patrón histopatológico de tipo enfermedad de Castleman que puede confundir el diagnóstico diferencial, siendo el ejemplo prototípico el linfoma de Hodgkin clásico.

El diagnóstico de la ECMi se realiza por exclusión. El diagnóstico requiere descartar numerosas enfermedades con las que tiene similitudes clínicas o histopatológicas, incluyendo infecciones, neoplasias, trastornos autoinmunes o autoinflamatorios. Además, el ECMi puede presentarse como un amplio espectro de trastornos autoinmunes, o estar asociado con enfermedades autoinmunes o autoinflamatorias, por lo que el diagnóstico diferencial puede ser complejo. Recientemente se han publicado unas guías de consenso internacional y nacional que resumen los criterios principales y menores para el diagnóstico de la ECMi.

## INCIDENCIA

La incidencia de ECU es 16–19 casos por 1 millón personas-año, en EE. UU. Aproximadamente 70–80 % de los casos de ECU son del tipo HV-ECU.

La incidencia de KSHV/HHV8-ECM está aumentando en casos de VIH con 8.3 casos por 10 000 pacientes-año. En España la incidencia de VIH en 2022 fue de ≈2800 nuevos casos.

La incidencia de ECMi en EE. UU. se estima en 3–3,5 casos por 1 millón personas-año.

## CRITERIOS PRINCIPALES HISTOAPTOLOGICOS PARA EL DIAGNOSTICO DE LA ECMI

Demostración de las características histopatológicas clave para el diagnóstico histopatológico de EC. Esto incluye la demostración de al menos un grado 2 de plasmacitosis y/o regresión folicular en la biopsia escisional de ganglio linfático. Otras características histopatológicas clave son la hiperplasia folicular, hipervascularización y proliferación de células dendríticas foliculares. Es recomendable gradar estas cinco características histopatológicas y asignar un subtipo histológico a los hallazgos (i.e EC hipervascular, EC plasmacelular o EC de tipo mixto) (Figura 1).

**Figura 1A.** Carastersticas histopatológicas clave. Atrofia/regresión folicular y esclerosis en un caso de ECU.

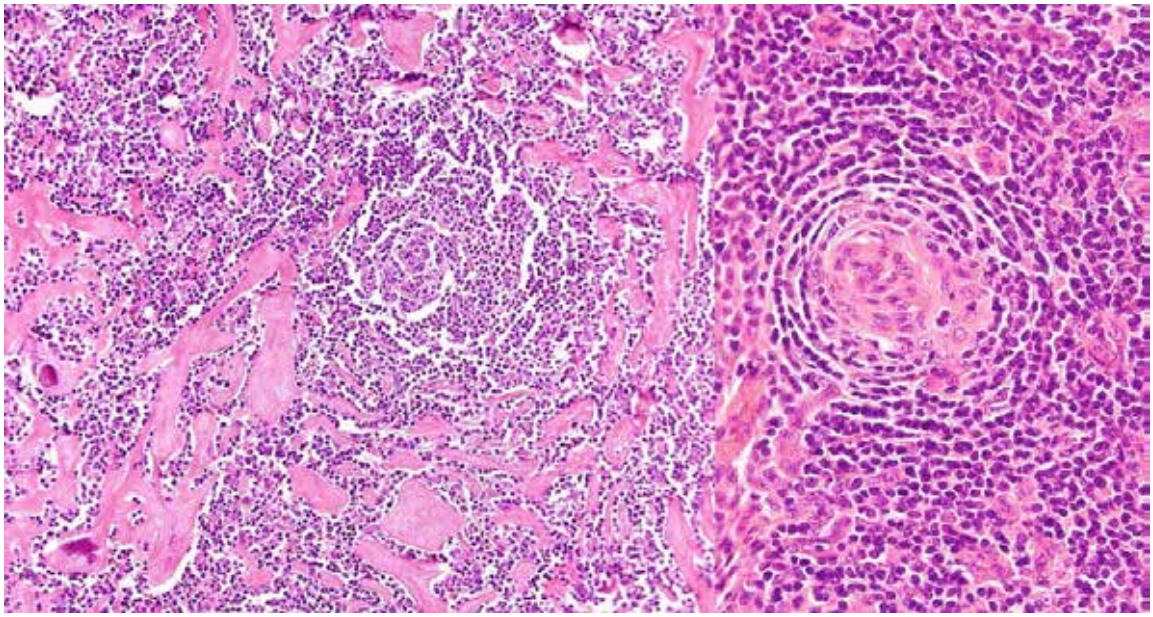


**Figura 1B.** Proliferación de células dendríticas foliculares.

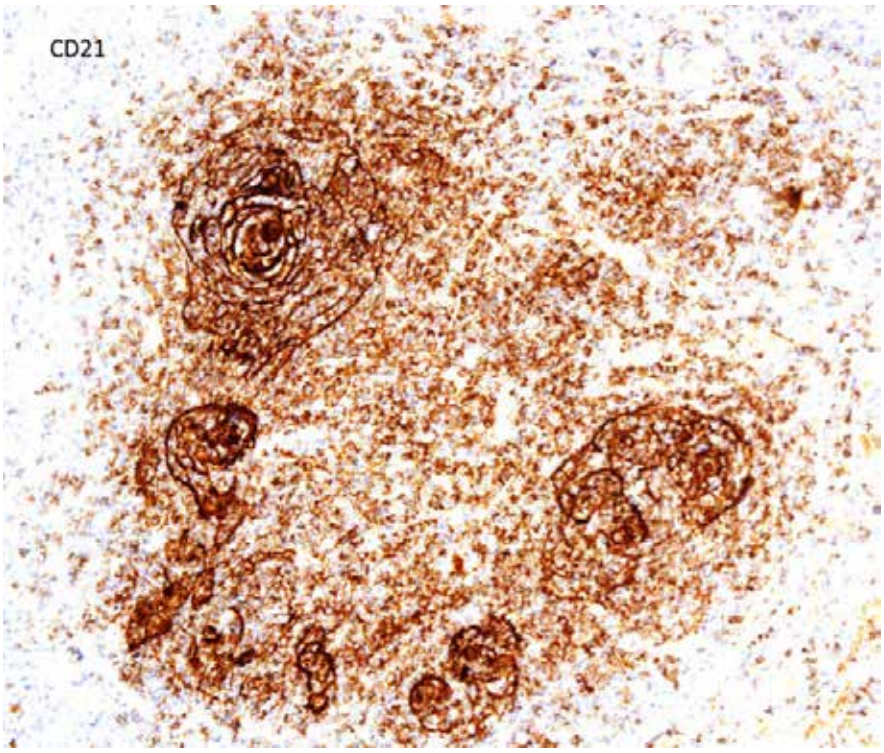


**Figura 1C.** Hiperplasia folicular en un caso de ECMi.

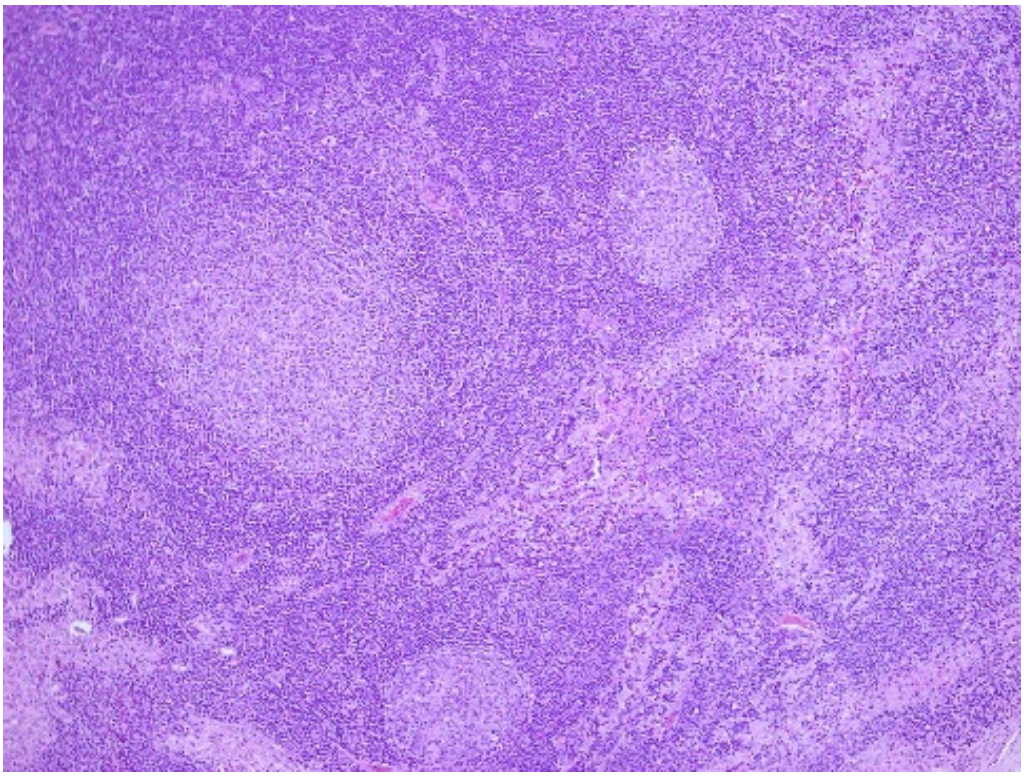


**Figura 1D.** Hipervascularización

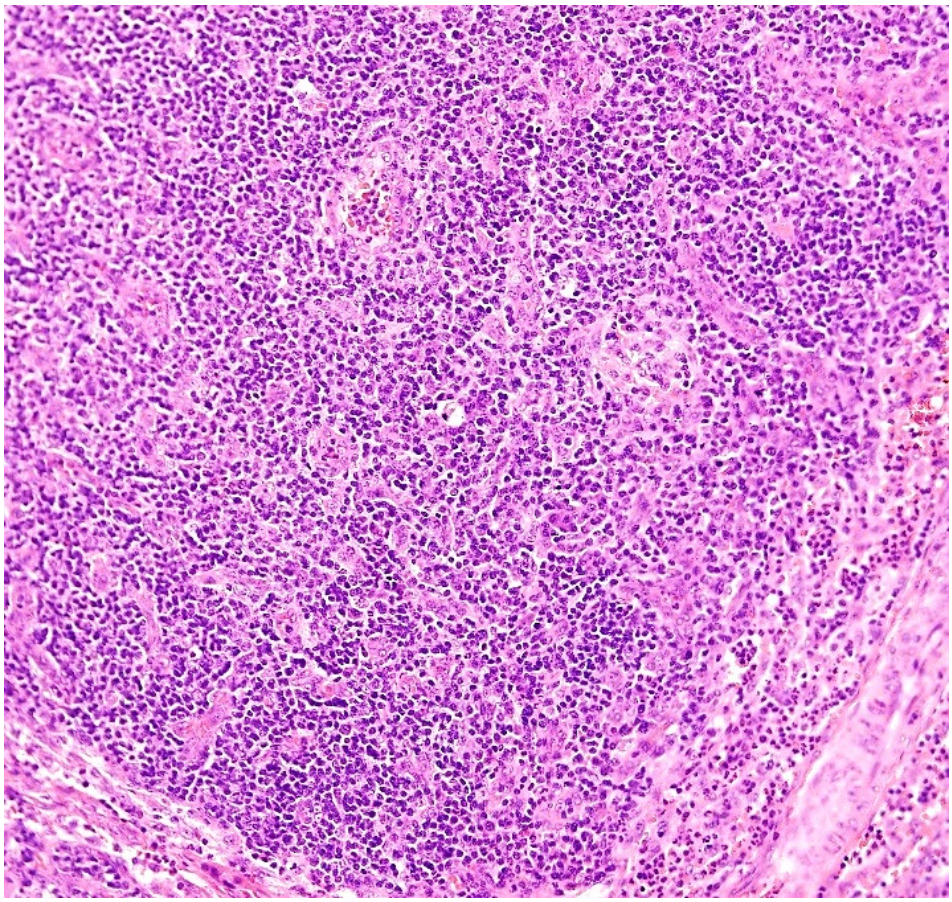
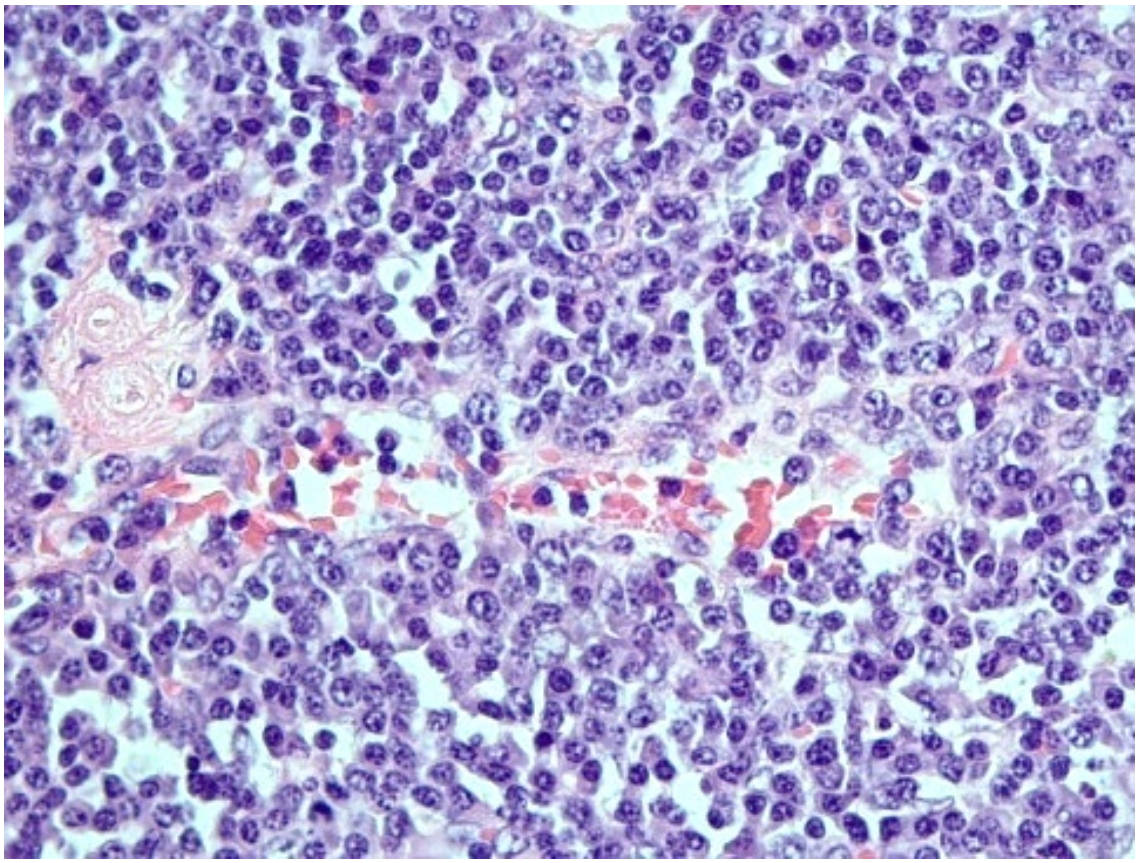


**Figura 1E.** plasmocitosis G2.



**TIPO DE BIOPSIA REQUERIDA PARA EL DIAGNÓSTICO**

Hay consenso en que en el caso de sospecha de EC, la aspiración con aguja fina (AAF) del ganglio linfático no es una técnica diagnóstica adecuada. Asimismo, la biopsia con aguja gruesa (BAG) es un procedimiento insuficiente para el diagnóstico de EC y, además, puede no permitir descartar la presencia de una neoplasia linfoide en algunos casos.

Un diagnóstico definitivo de EC requiere una biopsia escisional del ganglio linfático.

Si la biopsia inicial del ganglio linfático no proporciona un diagnóstico concluyente y la sospecha clínica es alta, se justifica una biopsia adicional de otro ganglio linfático, preferiblemente escisional (Figuras 2 y 3).

**Figura 2.** Aspectos morfológicos en un caso de ECMi. Obsérvese la presencia de folículos con prominentes células dendríticas foliculares e hipervsacularizacion, dilatación sinusoidal y prencia de plasmocitosis (G3).

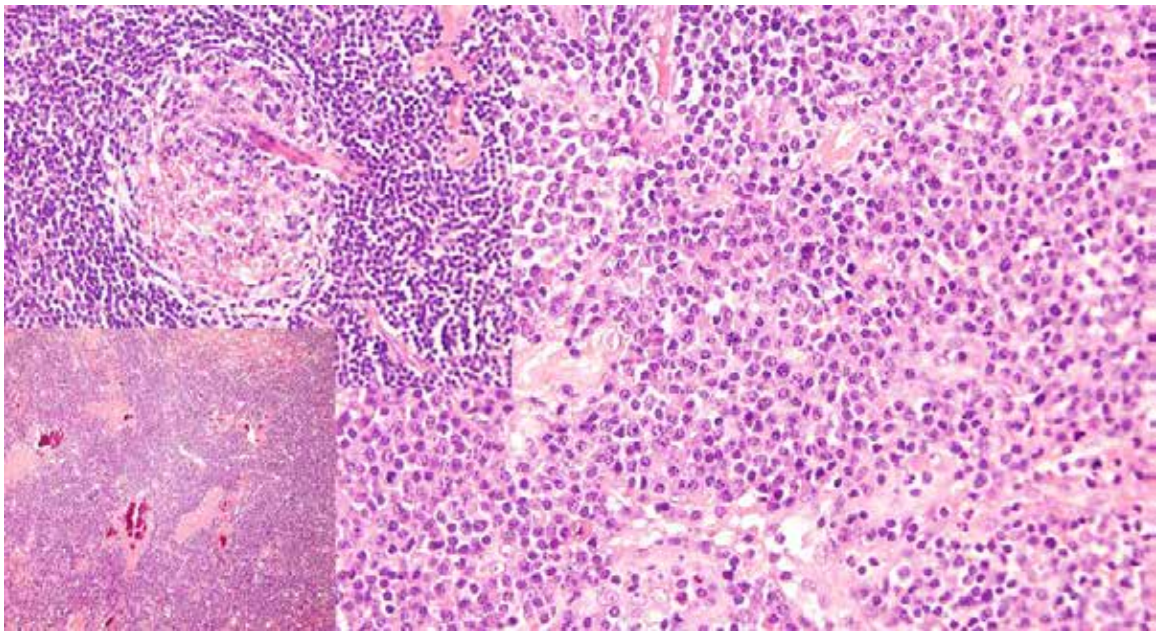
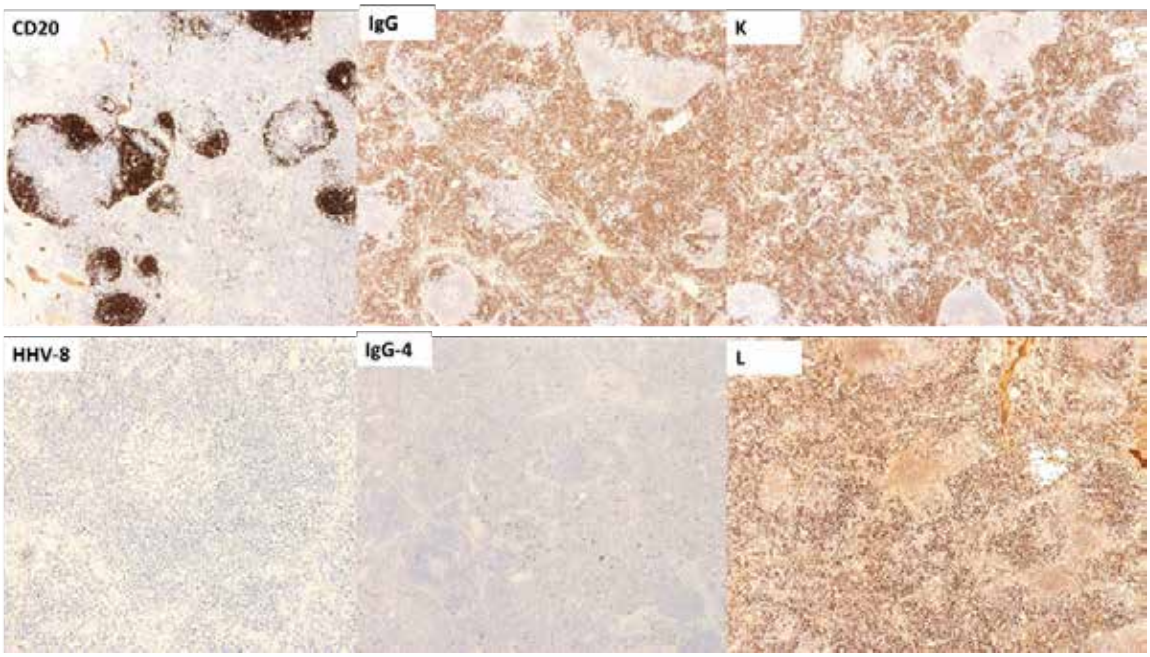


**Figura 3.** Aspectos inmunohistoquímicos en un caso de ECMi. Obsérvese la presencia de agregados linfoides con depleccion variable de la población de células B, expansión inerfolicular por plasmáticas politipicas IgG. HHV-8 es negativo.



**RECOMENDACIONES PARA LA VALORACIÓN ADECUADA DE LA BIOPSIA DEL GANGLIO LINFÁTICO**

1. Fijación en formalina e inclusión en parafina de toda la muestra según el protocolo (si la muestra es abundante, se puede considerar congelar parte de ella para otras determinaciones o para biobanco). Considerar la posibilidad de remitir tejido en fresco para la evaluación mediante citometría de flujo de poblaciones linfoides clonales.
2. Evaluación morfológica mediante H&E.
3. Evaluación y gradación de las características histopatológicas de la enfermedad de Castleman: centros germinales atróficos, proliferación de células dendríticas foliculares, hiperplasia de centros germinales, plasmocitosis e hipervascularización.
4. Panel de inmunohistoquímica con los siguientes marcadores: CD20, CD3, CD30, CD138, κ, λ, HHV8-LANA1, IgG, IgG4, ISH para EBV-EBER.
5. Citometría de flujo con los siguientes marcadores: CD19, CD20, CD5, sK, sΛ, CD38, CD3, CD4, CD8, TCR (AB/GD), CD56, CD10, CD22, CD23, CD200, CD79b, CD43, CD45.
6. Análisis de la clonalidad linfocitaria B o T en casos con una fuerte sospecha de linfoma/POEMS/neoplasia de células plasmáticas.
7. En caso de sospecha de linfoma o neoplasia de células plasmáticas, se deben aplicar paneles adecuados de IHQ/CMF para una tipificación precisa.

**ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS CLAVE EN EL DIAGNOSTICO DIFERENCIAL**

- Se debe descartar la posibilidad de EC HHV-8+ o hiperplasia linfoide asociada a HHV-8 mediante la tinción IHQ de HHV-8 LANA1 de las muestras de ganglio linfático.
- Se debe descartar la posibilidad de hiperplasia linfoide relacionada con infección por EBV mediante hibridación in situ para EBV-EBER.
- Se debe descartar la presencia de poblaciones de células plasmáticas monotípicas/clonales. Esto es particularmente relevante en casos con criterios clínicos de síndrome de POEMS o neoplasia de células plasmáticas. Las características necesarias para diagnosticar ECM-POEMS son poliradiculoneuropatía, gammapatía monoclonal y al menos una de las siguientes: lesiones óseas escleróticas, niveles elevados de VEGF en sangre o biopsia de ganglio linfático con características histopatológicas de EC.
- Se debe tener en cuenta que hasta el 16 % de los ganglios linfáticos de pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico puede presentar histopatología en el ganglio linfático de tipo EC.
- Los hallazgos histopatológicos que sugieran la posibilidad de ECMi incluyen un patrón mixto de regresión folicular e hiperplasia folicular. Los casos con ECU se caracterizan por proliferación de células dendríticas foliculares (tipo hipervascular). Los casos de ECM asociada con HHV-8 presentan altos grados de hipervascularización. En casos de EC asociada con POEMS/NCP se pueden detectar poblaciones de plasmáticas monotípicas en cerca del 30 % de los casos.
- Es posible detectar niveles relativamente altos de plasmáticas politípicas IgG4 positivas en casos de ECMi, sin que se cumplan los criterios propuestos para el diagnóstico de enfermedad relacionada con IgG4.

**RECOMENDACIÓN DE EVALUACIÓN DE LA BIOPSIA DE MEDULA ÓSEA.**

En casos de ECMi, especialmente en el síndrome TAFRO se puede detectar hiperplasia megacariocítica y fibrosis reticulínica significativa en la biopsia de medula ósea. En casos con neoplasia de células plasmáticas/síndrome de POEMS los hallazgos en la biopsia de medula ósea usualmente permiten detectar una población de plasmáticas clonales.

En caso de un diagnóstico de linfadenopatía por biopsia de EC, se recomienda realizar una biopsia/aspirado de médula ósea para descartar neoplasia de células plasmáticas u otros procesos linfoproliferativos con diferenciación plasmacítica. Esta biopsia y aspirado de medula debe evaluarse desde el punto de visa morfológico y fenotípico, incluyendo paneles de CMF e IHQ apropiados para la detección de poblaciones linfoides y plasmocelulares clonales.

**RECOMENDACIONES PARA EL INFORME ANATOMOPATOLÓGICO.**

El informe anatomopatologico debe resumir e integrar todos los hallazgos obtenidos del espécimen de manera estructurada.

Finalmente, siempre se requiere una correlación clinicopatológica y de laboratorio para hacer un diagnóstico formal de iMCD (Figura 4).

**Figura 4.** Proceso de informe anatomopatológico y correlación clínica con la información disponible. El grado de certeza del diagnóstico definitivo dependerá de una adecuada correlación clinicopatologica, el cumplimiento de los criterios de consenso de ECMi y la exclusión de patologías asociadas.

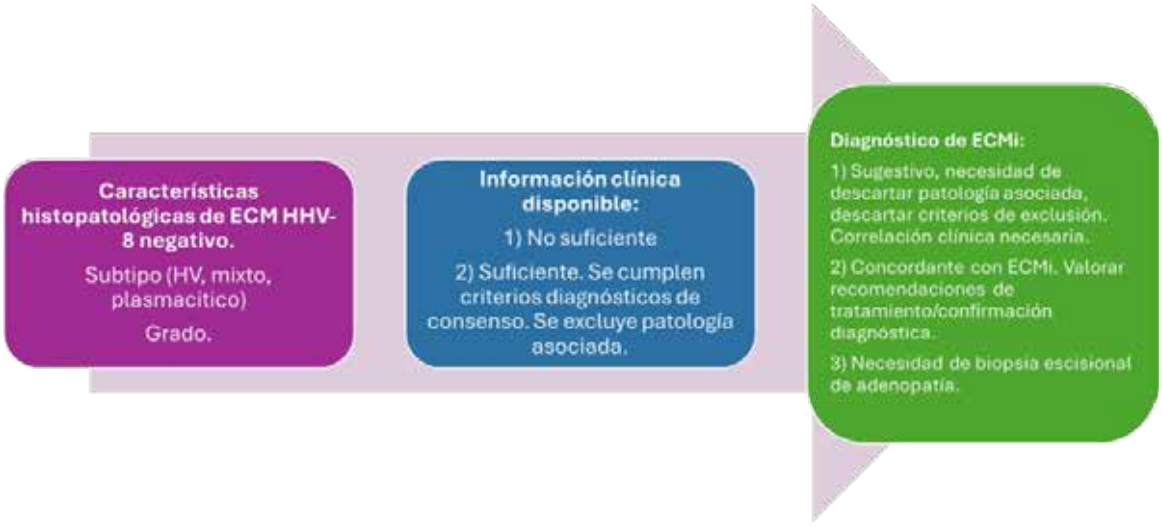

Características histopatológicas de ECM HHV-8 negativo.
Subtipo (HV, mixto, plasmacitico)
Grado.
Información clínica disponible:
1) No suficiente
2) Suficiente. Se cumplen criterios diagnósticos de consenso. Se excluye patología asociada.
Diagnóstico de ECMi:
1) Sugestivo, necesidad de descartar patología asociada, descartar criterios de exclusión. Correlación clínica necesaria.
2) Concordante con ECMi. Valorar recomendaciones de tratamiento/confirmación diagnóstica.
3) Necesidad de biopsia escisional de adenopatía.

**Tabla 1**. Criterios diagnósticos para la enfermedad de Castleman multicéntrica idiopática

Se requieren tres condiciones para establecer el diagnóstico:

1. Cumplir con ambos criterios principales (histopatología ganglionar característica y linfadenopatía multicéntrica).
2. Al menos 2 de los 11 criterios menores con al menos 1 de las anomalías de laboratorio.
3. La exclusión de trastornos infecciosos, autoinmunitarios y malignos que pueden imitar la ECMi.

**Criterios principales**

- Histología
  - (al menos grado ≥ 2 para la regresión de centros germinales o plasmocitosis)
  - Centros germinales regresivos, a menudo con zonas de manto expandidas compuestas de anillos concéntricos de linfocitos con una apariencia de «piel de cebolla»
  - Proliferación de células foliculares dendríticas
  - Hipervascularizacion, a menudo con endotelio prominente en el espacio interfolicular y vasos que penetran en los centros germinales con apariencia de «piruleta»
  - Plasmocitosis politipica en el espacio interfolicular.
  - Centros germinales hiperplásicos
- Linfadenopatía multicéntrica
  - Ganglios linfáticos agrandados (≥ 1 cm de diámetro en el eje corto) en ≥ 2 estaciones de ganglios linfáticos

**Criterios menores**

Clínicos
- Síntomas constitucionales: sudores nocturnos, fiebre, pérdida de peso o astenia.
- Hepatomegalia o esplenomegalia.
- Acumulación de líquidos: edema, anasarca, ascitis o derrame pleural.
- Hemangiomatosis eruptiva de cereza o pápulas violáceas.
- Neumonitis intersticial linfocítica.

Laboratorio
- Elevación de la proteína C-reactiva o de la velocidad de sedimentación de eritrocitos.
- Anemia.
- Trombocitopenia o trombocitosis.
- Hipoalbuminemia.
- Disfunción renal o proteinuria.
- Hiper gammaglobulinemia policlonal.

**Bibliografía**

1. Fajgenbaum DC, Uldrick TS, Bagg A, et al. International, evidence-based consensus diagnostic criteria for HHV-8–negative/idiopathic multicentric Castleman disease. Blood 2017;129:1646–57. doi:10.1182/blood-2016-10-746933

2. Montes-Moreno S, Climent F, Fraga M, Luis Patier J, Robles-Marhuenda A, Garcia-Sanz R, et al. Expert consensus on the integrated diagnosis of idiopathic multicentric Castleman disease. Rev Esp Patol. 2023;56(3):158-67.

3. Rodriguez Merino L, Pomares AA, Arce JR, Montes-Moreno S. From Castleman disease histopathological features to idiopathic multicentric Castleman disease: a multiparametric approach to exclude potential iMCD histopathological mimickers. Journal of clinical pathology. 2023.

4. Pelliccia S, Rogges E, Cardoni A, Lopez G, Conte E, Faccini AL, et al. The application of a multidisciplinary approach in the diagnosis of Castleman disease and Castleman-like

lymphadenopathies: A 20-year retrospective analysis of clinical and pathological features. Br J Haematol. 2024;204(2):534-47.

5. Dao LN, Hanson CA, Dispenzieri A, Morice WG, Kurtin PJ, Hoyer JD. Bone marrow histopathology in POEMS syndrome: a distinctive combination of plasma cell, lymphoid, and myeloid findings in 87 patients. Blood. 2011;117(24):6438-44.

6. Rodriguez-Merino L, Montes-Moreno S. Castleman disease-type histopathological patterns of lymph nodes in patients with plasma cell neoplasia and POEMS syndrome. Ann Diagn Pathol. 2025 Feb;74:152414. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2024.152414. Epub 2024 Nov 26. PMID: 39608292.

7. Kojima M, Motoori T, Asano S, Nakamura S. Histological diversity of reactive and atypical proliferative lymph node lesions in systemic lupus erythematosus patients. Pathol Res Pract. 2007;203(6):423-431

8. Dispenzieri A. POEMS Syndrome: 2019 Update on diagnosis, risk-stratification, and management. American journal of hematology. 2019;94(7):812-27.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Proliferaciones linfoides no neoplásicas: Enfermedad asociada con IgG4

**Mónica García-Cosío Piqueras**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Ramon y Cajal, Madrid*

## DEFINICION Y FRECUENCIA DE LA ENTIDAD

La enfermedad asociada a inmunoglobulina IgG4 (IgG4-RD) es un trastorno sistémico de mediación inmune, poco frecuente, caracterizado por una clínica de presentación subaguda, con aumento de las concentraciones séricas de IgG4 y agrandamiento del tamaño de uno o varios órganos por el desarrollo de lesiones tumorales fibroinflamatorias que pueden afectar prácticamente cualquier localización anatómica, siendo las más frecuentes el sistema pancreatobiliar, glándula lagrimal y salivar, entre otras.

Según estudios realizados en Japón, la incidencia estimada de IgG4-RD es de 0,28-1,08/100.000 habitantes, IgG4-RD, con una edad de presentación entre 50-70 años, y una ratio hombre/mujer de entre 4:1 a 1.6:1 según los estudios.

Muchas lesiones fibroinflamatorias y esclerosantes previamente consideradas como entidades independientes, ahora se incluyen dentro del espectro de IgG4-RD, tales como colangitis esclerosante, fibrosis retroperitoneal, algunas formas de aortitis y sialoadenitis esclerosante (tumor de Küttner y síndrome de Mickulicz).

Su etiología es desconocida, y por la baja incidencia de la enfermedad y sus manifestaciones clínicas poco específicas, plantea un rango amplio de diagnósticos diferenciales, que incluyen procesos neoplásicos, infecciones y otros trastornos inflamatorios.

Para un diagnóstico apropiado se requiere una integración de datos clínicos, estudios de laboratorio y características histopatológicas. El patólogo debe ser conocedor de su espectro morfológico, sus criterios diagnósticos y todos los posibles diagnósticos diferenciales.

La sospecha inicial de IgG4-RD se basa en la presentación de un agrandamiento inexplicado de uno o más órganos con alteraciones analíticas, siendo la más conocida el aumento de las concentraciones séricas de IgG4, si bien no es demasiado específica, y hasta un 50 % de pacientes con IgG4-RD muestran unas concentraciones normales.

Otras alteraciones analíticas que son relativamente comunes el paciente con IgG4-RD son eosinofilia periférica, hipergammaglobulinemia policlonal, aumento de niveles de igE en suero, aumento de proteína C e hipocomplementemia.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

Ya que las características clínicas y analíticas de la IgG4-RD no son específicas, resulta crucial para el diagnóstico el estudio de biopsia escisional para demostrar los rasgos histopatológicos distintivos de la enfermedad. La punción-aspiración con aguja fina no es apropiada y la biopsia con aguja gruesa, si bien es orientativa, es insuficiente, ya que puede no contener algunas de las características histopatológicas principales o puede no ser representativa de la lesión en su totalidad.

## CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS

Para el diagnóstico histológico de IgG4-RD es necesario la coexistencia de ciertas características histológicas y el aumento de células plasmáticas IgG4 junto a una ratio elevado IgG/IgG4, determinado por inmunohistoquímica.

**Las tres características histológicas principales de la IgG4-RD son:**

- Infiltrado linfoplasmocitario denso. La mayoría de las células son linfocitos T con agregados de células B y formación ocasional de folículos linfoides. El componente de células plasmáticas es abundante. Los histiocitos no son prominentes.
- Fibrosis, dispuesta al menos focalmente en un patrón estoriforme. Se acompaña de células fusiformes fibroblásticas sin atipia.
- Flebitis obliterativa por el infiltrado linfoplasmocitario y fibrosis que afecta la pared de la vena e incluso la luz. En ocasiones resulta necesario realizar una tinción de fibras elásticas para detectar las venas totalmente obliteradas. Si bien no es el rasgo más frecuente encontrado, es el más específico. Una clave para detectarla es la identificación de una arteria sin vena acompañante.

**Otras características menos específicas son:**

- Flebitis no obliterativa.
- Aumento del número de eosinófilos en el tejido.

**-En relación a las células plasmáticas IgG4:**

La realización de tinción inmunohistoquímica de IgG4 junto con IgG es fundamental para el diagnóstico histopatológico de IgG4-RD, incluso en casos en los que la clínica es altamente sugestiva.

Se considera que una ratio **IgG4/IgG >40 %** es el punto de corte para diagnóstico histopatológico de IgG4-RD en cualquier órgano.

En biopsia escisional, un infiltrado denso y difuso que supere **50 células IgG4 por campo 40x** se considera altamente específico de IgG4-RD, y en biopsia incisional, un contaje de más de 10 células IgG4 por campo 40x, junto con la presencia de fibrosis estoriforme y/o flebitis obliterativa apoyaría el diagnóstico, ajustándose a la categoría diagnóstica de «probable IgG4-RD» o «insuficiente para diagnóstico de IgG4-RD» (ver apartado posterior).

El punto de corte de células IgG4 para el diagnóstico histopatológico de la enfermedad puede variar de órgano a órgano. Cuanto mayor sea el contaje de células IgG4, mayor es la probabilidad de la enfermedad.

Los puntos de corte de contaje de células IgG4 en biopsias escisionales de los órganos más frecuentemente afectados son:

- Páncreas: >50 células IgG4 por campo 40X
- Glándula salivar y lagrimal: >100 células IgG4 por campo 40X

- Pulmón: >20 células IgG4 por campo 40X
- Retroperitoneo: >10 células IgG4 por campo 40X

Cabe recordar que, aunque el contaje de IgG4 en una biopsia supere el punto de corte, no es suficiente para realizar el diagnóstico de IgG4-RD, ya que otras lesiones inflamatorias o neoplásicas pueden tener aumento de células IgG4 acompañantes. Hace falta correlación con las características histopatológicas, hallazgos clínicos y radiológicos.

## DIAGNÓSTICO DE IGG4-RD

Existen dos clasificaciones diagnósticas de IgG4-RD:

**La clasificación ACR/EULAR (American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification) (2019)**, en la que una vez que el caso cumple los criterios iniciales de inclusión y no cumple los criterios de exclusión, se realiza una valoración cuantitativa de cada uno de los criterios de inclusión (clínicos, radiológicos e histológicos). Una puntuación de ≥20 es diagnóstica de IgG4-RD.

Los criterios de inclusión histopatológicos y su puntuación son los siguientes:

- Biopsia no informativa: 0 puntos
- Infiltrado linfocítico denso: 4 puntos
- Infiltrado linfocítico denso y flebitis obliterativa: 6 puntos
- Infiltrado linfocítico denso, fibrosis estoriforme con o sin flebitis obliterativa: 13 puntos
- Inmunohistoquímica para IgG/IgG4: 0-16 puntos:
  - Ratio IgG/IgG4 <40 % y número de células IgG4/C.G.A es de 0-9 o indeterminado: 0 puntos
  - Ratio IgG/IgG4 >41 % y número de células IgG4/C.G.A es de 0-9 o indeterminado: 7 puntos
  - Ratio IgG/IgG4 <40 % o indeterminado y número de células IgG4/C.G.A es ≥10 o indeterminado: 7 puntos
  - Ratio IgG/IgG4 es del 41-70 % y número de células IgG4/C.G.A es ≥10: 14 puntos
  - Ratio IgG/IgG4 es ≥71 % y número de células IgG4/C.G.A es de 10 a 50: 14 puntos
  - Ratio IgG/IgG4 es ≥71 % y número de células IgG4/C.G.A es ≥51: 16 puntos

**Clasificación diagnóstica de RCD** (Revised Comprehensive Diagnostic criteria for IgG4-RD) (2020). Esta clasificación es la más utilizada por ser más fácil de aplicar, y se basa en tres categorías diagnósticas según el grado de probabilidad de la enfermedad:

- **Altamente sugestivo** de IgG4-RD: se requieren al menos dos de las tres características histológicas principales, siendo en la mayoría de los casos el infiltrado linfoplasmocitario y la fibrosis estoriforme. El contaje de células IgG4 en el tejido varía de 10 a 200 células según el órgano y el ratio IgG/IgG4 es mayor del 40 %.
- **Probable** IgG4-RD:
  - Sólo se cumple una de las tres características histológicas principales, generalmente infiltrado linfoplasmocitario denso, y el número de células IgG4 requerido.
  - Este término se aplica si el diagnóstico se basa en BAG o bloque celular, ya que en algunos casos puede no ser suficientemente representativo de la lesión
  - También se utiliza en casos de afectación meníngea o cutánea, ya que no hay suficientes estudios publicados de la enfermedad en estas localizaciones.
- **Insuficiente** para diagnóstico de IgG4-RD: cuando no se cumplen los criterios de las dos primeras categorías.

En estas dos últimas categorías no se excluye el diagnóstico de IgG4-RD, pudiendo ser un apoyo para el mismo si se consideran las características específicas de cada órgano.

## CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE LOS ÓRGANOS MÁS FRECUENTEMENTE AFECTADOS

- Páncreas (pancreatitis autoinmune tipo 1) y colangitis esclerosante asociada a IgG4-RD: Suelen mostrar todas las características histológicas requeridas y además también pueden presentar arteritis obliterativa.
- Glándula lagrimal (sialoadenitis asociada a IgG4) e inflamación orbitaria esclerosante asociada a IgG4-RD: En más del 70 % de casos existe afectación bilateral. Característicamente muestra fibrosis densa colágena que se dispone en los septos interlobulillares y formación de folículos linfoides. No es frecuente la fibrosis estoriforme ni la flebitis obliterativa, por lo que en esta localización su presencia no es necesaria para el diagnóstico de «altamente sugestivo de IgG4-RD».
- Glándula salivar (tumor de Küttner): la más frecuentemente afectada es la submaxilar, siendo con frecuencia bilateral. El infiltrado inflamatorio se dispone en los septos interlobulillares, con preservación de la arquitectura de la glándula. Con frecuencia muestra folículos linfoides hiperplásicos de contorno irregular. Invariablemente muestra fibrosis estoriforme y con menor frecuencia flebitis obliterativa.
- Ganglio linfático (linfadenopatía asociada a IgG4): Se considera como tal cuando existe afectación extraganglionar documentada. Se reconocen 5 patrones histológicos: tipo enfermedad de Castleman, tipo hiperplasia folicular, tipo expansión interfolicular, tipo transformación progresiva de los centros germinales y tipo pseudotumor inflamatorio. Solo en este último patrón, que es muy infrecuente, se reconocen las características histológicas típicas de IgG4-RD. El resto de los patrones son muy inespecíficos y pueden observarse en otras condiciones.
- Pulmón y pleura (enfermedad pulmonar y pleural asociada a IgG4): presencia de agregados pequeños de neutrófilos en espacios alveolares o entre el infiltrado linfoplasmocitario, el cual se extiende por la región perilinfática. A veces no muestra flebitis obliterativa, aunque con frecuencia puede observarse arteritis obliterativa.
- Riñón (enfermedad renal asociada a IgG4): Con gran frecuencia se asocia a afectación en otros órganos. Muestra un patrón histológico heterogéneo, que varía de presentar un infiltrado inflamatorio prominente a fibrosis densa paucicelular. No es frecuente encontrar flebitis obliterativa.
- Retroperitoneo (fibrosis retroperitoneal asociada a IgG4): Muestra una fibrosis densa paucicelular. Este hecho, unido a que en esta localización no es posible realizar una biopsia amplia, el punto de corte de células IgG4 necesario para el diagnóstico es de >10, siempre que la ratio IgG/IgG4 sea de >40 %.

## DIAGNOSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNOSTICOS

- Existen dos características histológicas que excluyen el diagnóstico de IgG4-RD:
  - La presencia de granulomas epitelioides (la presencia de células gigantes es muy infrecuente).
  - Infiltrado neutrofílico prominente y necrosis, a no ser que haya erosión o ulceración.
- El diagnóstico de IgG4-RD debe hacerse una vez que se han descartado gran variedad de procesos inflamatorios, infecciosos o neoplásicos que pueden cursar con aumento de células IgG4, tales como:
  - Neoplasias hepatobiliares. Ayuda al diagnóstico diferencial que la ratio IgG/IgG4 no excede del 40 %
  - Pseudotumor inflamatorio, que puede compartir las características histológicas de IgG4-RD además de un elevado número de células IgG4. Sin embargo, en esta entidad las células estromales son mucho más prominentes, pudiendo tener atipia. La positividad inmunohistoquímica de ALK1 y ROS1 en la mayoría de los casos apoya el diagnóstico.
  - Procesos linfoproliferativos, tanto neoplasias de células plasmáticas como linfomas con diferenciación plasmocítica. Las células plasmáticas en IgG4-RD son politípicas. Si se

identifica una población monotípica de las mismas habría que considerar una neoplasia de células plasmáticas o un proceso linfoproliferativo con diferenciación plasmacítica.
- Infecciones de tiempo de evolución como la aortitis, sífilis y mastoiditis.
- Procesos inflamatorios autoinmunes como la granulomatosis eosinofílica con poliangeítis (Churg-Strauss) y otras vasculitis asociadas con ANCA.

**PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA**

- El panel básico para diagnóstico de IgG4-RD lo constituye el estudio inmunohistoquímico de IgG e IgG4.
- Es recomendable el estudio de la población linfoide con CD20, CD79a, CD3, CD10, BCL2, BCL6, CD21, CD23 y CD5 así como de κ y λ (por inmunohistoquímica o hibridación in situ).
- En casos en los que se plantea diagnóstico diferencial con pseudotumor inflamatorio, se recomienda estudio de ALK1 y ROS1.

**RECOMENDACIONES**

1. Para un diagnóstico histopatológico más certero de IgG4-RD es recomendable el estudio en biopsia escisional.

2. Para el contaje de células plasmáticas IgG4 y calcular la ratio IgG/IgG4, se recomienda seleccionar tres campos con un número alto de células plasmáticas IgG4 a 40x y hacer la media. Esos mismos tres campos han de ser seleccionados para el contaje de células plasmáticas IgG y hacer la ratio IgG/IgG4.

3. El aumento de células plasmáticas IgG4 en el tejido es un rasgo inespecífico. Muchos procesos neoplásicos o inflamatorios pueden cursar con aumento de las mismas. En el informe final de un estudio de IgG4-RD se debe recomendar correlación con características clínicas para el diagnóstico definitivo de la enfermedad.

4. Se recomienda utilizar la clasificación diagnóstica de RCD (2020).

**Figura 1.** IgG4-RD. Características histológicas principales: infiltrado linfoplasmocitario denso (a) con formación de agregados linfoides (b). Presencia frecuente de células plasmáticas y ocasionales eosinófilos(c). Fibrosis colágena densa (d) de características estoriformes (e). Flebitis obliterativa (f).

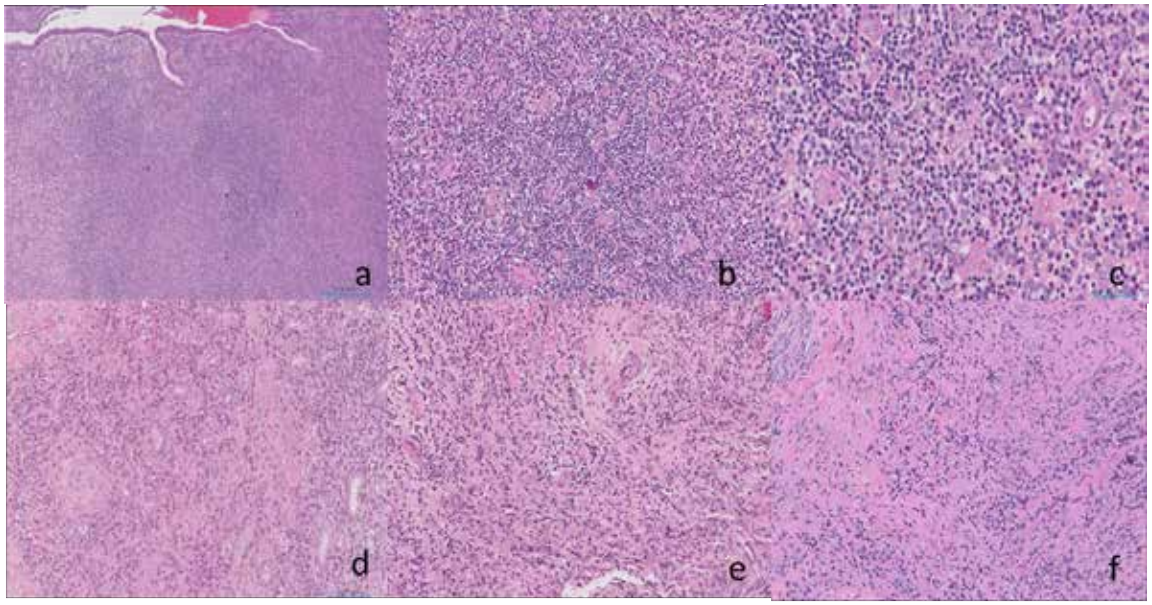



**Figura 2.**Estudio inmunohistoquímico de la celularidad plasmática en IgG4-RD. Las células plasmáticas IgG4 suponen más del 40 % del total de las IgG, contabilizándose más de 50/cga. No hay restricción para cadenas ligeras κ o λ.

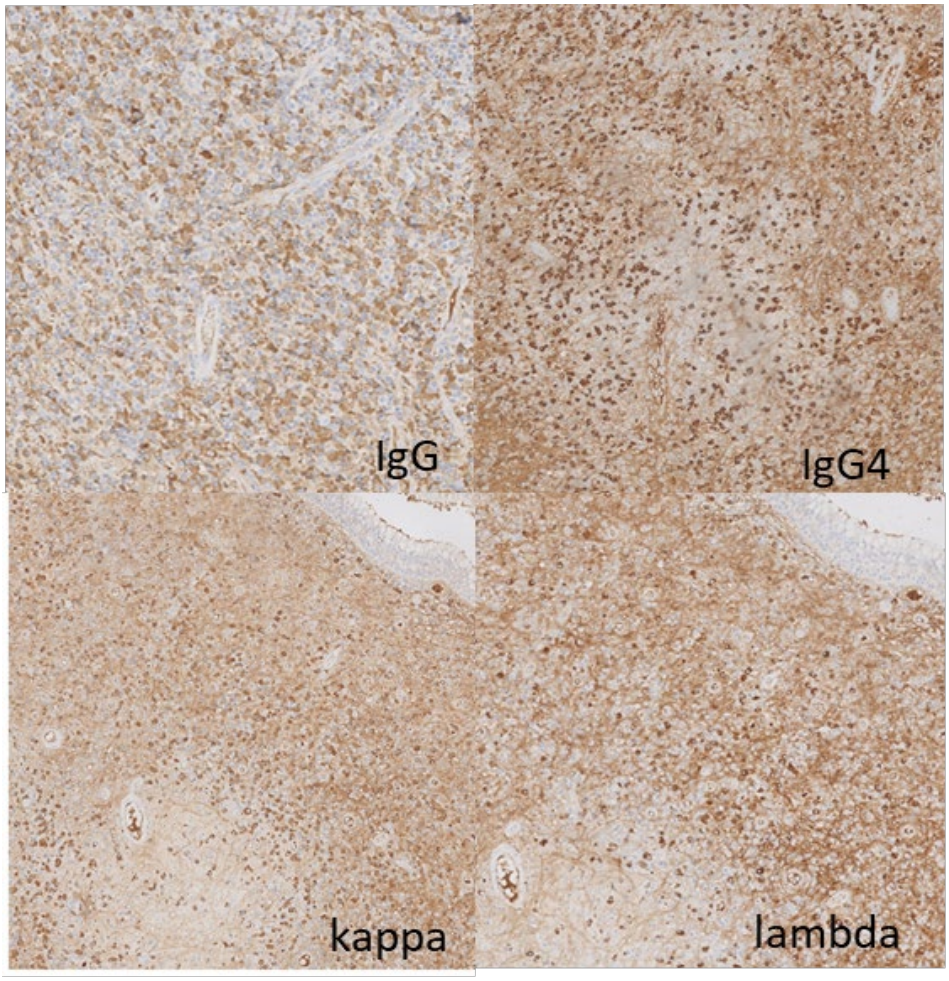
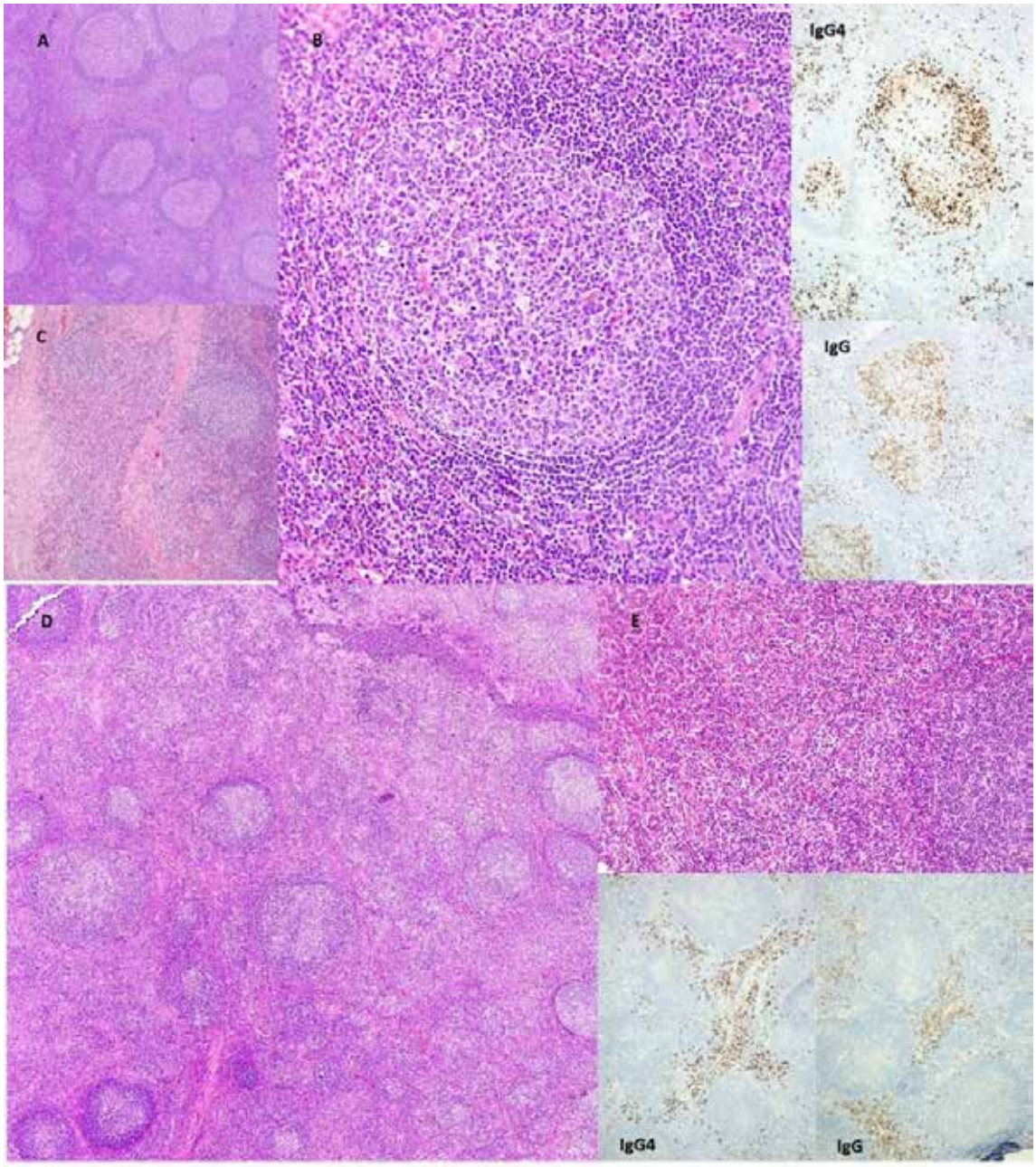


**Figura 3.** Patrones histopatológicos característicos en la biopsia escisional de ganglio linfático. A, B, C: patron histopatológico caracterizado por hiperplasia folicular y plasmocitosis intrafolicular, con exceso de IgG4. D y E: Patron histopatológico con expansión interrfolicular (LTAI-like) y exceso de IGG4 en el espacio interfolicular.



**Bibliografía**


1. Perugino CA, Stone JH. IgG4-related disease: an update on pathophysiology and implications for clinical care. Nat Rev Rheumatol. 2020 Dec;16(12):702-714. doi: 10.1038/s41584-020-0500-7. Epub 2020 Sep 16. PMID: 32939060.

2. Wallace ZS, et al; Members of the ACR/EULAR IgG4-RD Classification Criteria Working Group. The 2019 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for IgG4-related disease. Ann Rheum Dis. 2020 Jan;79(1):77-87.

3. Bledsoe JR, Della-Torre E, Rovati L, Deshpande V. IgG4-related disease: review of the histopathologic features, differential diagnosis, and therapeutic approach. APMIS. 2018 Jun;126(6):459-476.

4. Deshpande V, et al. Consensus statement on the pathology of IgG4-related disease. Mod Pathol. 2012 Sep;25(9):1181-92.

5. Martín-Nares E, Hernández-Molina G, Baenas DF, Paira S. IgG4-Related Disease: Mimickers and Diagnostic Pitfalls. J Clin Rheumatol. 2022 Mar 1;28(2):e596-e604.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Proliferaciones linfoides no neoplásicas: Enfermedad de Kikuchi-Fujimoto

**Natalia Papaleo**
*Servicio de Anatomia Patológica, Hospital Parc Tauli, Barcelona*

## DEFINICIÓN

La enfermedad de Kikuchi-Fujimoto (KF) es una linfadenitis necrotizante rara, que presenta un curso clínico autolimitado resolviéndose en el plazo de 1 a 2 meses, en la mayoría de los casos.

Se caracteriza por presentar una proliferación paracortical de inmunoblastos e histiocitos, con la presencia de apoptosis y/o necrosis con abundantes restos nucleares.

## EPIDEMIOLOGÍA

Tiene una alta prevalencia entre las poblaciones asiáticas posiblemente vinculado a algunos haplotipos, aunque se presenta en todo el mundo. Afecta a adultos jóvenes y muestra un predominio en el sexo femenino.

## RASGOS CLINICOS

Se describe una predilección en los ganglios linfáticos cervicales unilaterales, pero con menor frecuencia, la enfermedad es bilateral y afecta a ganglios linfáticos de otras localizaciones.

Las manifestaciones clínicas pueden incluir fiebre que puede ser prolongada, astenia, pérdida de peso, erupciones cutáneas, leucopenia, anemia, artromialgia y pueden estar elevados la velocidad de sedimentación globular, el nivel de LDH y/o de aminotransferasa.

Se puede observar una alta captación de FDG en la PET-CT, imitando al linfoma y esto se correlaciona con la gravedad de la enfermedad.

La etiología no está clara, aunque se postula que las infecciones y las enfermedades autoinmunes son desencadenantes de la enfermedad. Es así que se han descrito asociaciones con el lupus eritematoso sistémico (LES) y la enfermedad de Graves o incluso con meningoencefalitis, miocarditis y linfohistiocitosis hemofagocítica.

## RASGOS HISTOPATOLÓGICOS

Para un diagnóstico certero, se prefiere la biopsia excisional frente a la aspiración con aguja fina.

Los ganglios linfáticos presentan nódulos necróticos confluentes de tamaño variable y de localización paracortical. La composición celular de los focos cariorrécticos evoluciona a través de tres fases. La fase proliferativa se caracteriza por abundantes restos cariorrécticos mezclados con un número variable de histiocitos con núcleos en forma de medialuna (a menudo acompañados de restos fagocitados), inmunoblastos y células dendríticas plasmocitoides. Los abundantes inmunoblastos con pliegues nucleares irregulares pueden imitar a un linfoma. La fase necrosante se caracteriza por áreas discretas a confluentes de necrosis coagulativa entre las células proliferantes y los restos cariorrécticos, mientras que la fase xantomatosa se caracteriza por la acumulación de macrófagos espumosos. Los granulocitos y los eosinófilos están notablemente ausentes, y las células plasmáticas son escasas.

## PANEL INMUNOHISTOQUÍMICO

El análisis inmunohistoquímico es útil para descartar el linfoma maligno.

Debido a la exuberante respuesta inmune mediada por células T a una variedad de estímulos, se observa un predominio de células T, principalmente CD8 positivas, que inducirán apoptosis, a través de las vías FAS y perforina. La mayoría expresa TCRβ y una minoría expresa TCRγ. Los mismos pueden expresar CD30. Se describen inmunofenotipos aberrantes, en forma de pérdida parcial o completa de la expresión de CD5, CD7 y/o CD2.

Una característica que ayuda al diagnóstico es la presencia de histiocitos que expresan mieloperoxidasa y CD68.

Las células dendríticas plasmocitoides positivas para CD123 desempeñan un papel en la promoción de la reacción citotóxica mediante la producción de interferón tipo I.

## PATOLOGÍA MOLECULAR Y DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Con poca frecuencia, se identifican reordenamientos monoclonales u oligoclonales del gen *TCR* que junto con la posible pérdida de marcadores inmunohistoquímicos de línea, pueden llevar a un diagnóstico erróneo de linfoma de células T.

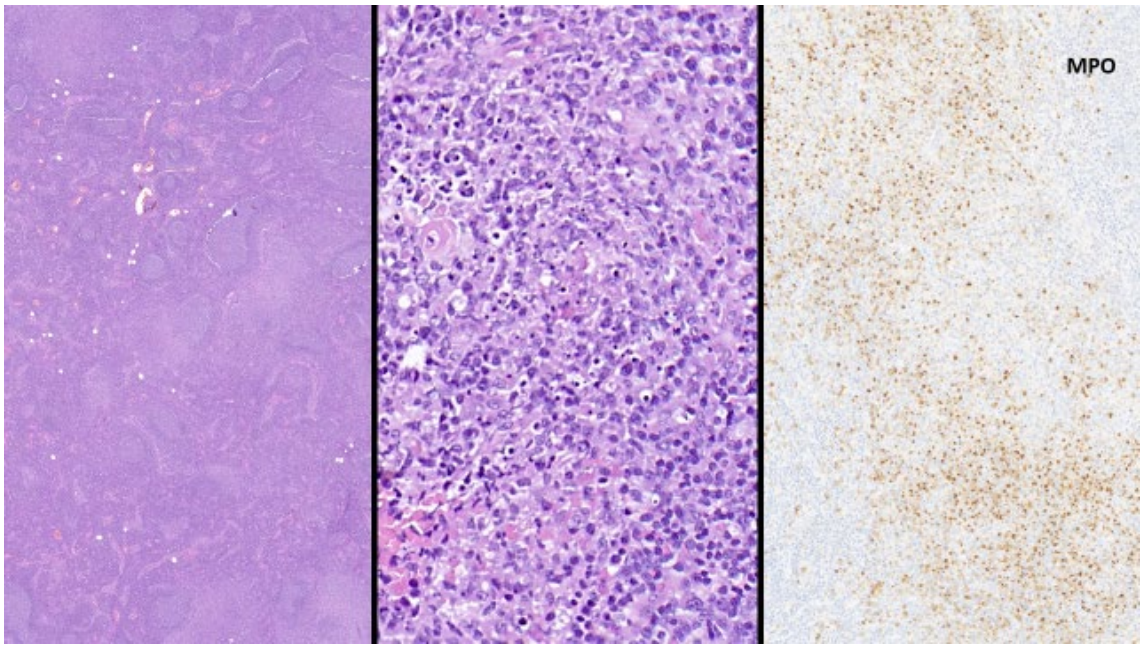
## RECOMENDACIONES

1. Para establecer el diagnóstico de la enfermedad de KF es esencial identificar la presencia de focos cariorrécticos de localización paracortical con proliferación de histiocitos, células dendríticas e inmunoblastos; sin observarse neutrófilos. Grado C. Evidencia nivel IV.

2. Se recomienda excluir imitadores de la enfermedad de KF; en particular, infecciones relevantes, linfomas y enfermedades autoinmunes siempre que sea posible. Grado C. Evidencia nivel IV.

3. El diagnóstico diferencial con la adenitis asociada al LES puede ser un desafío, porque ambas comparten hallazgos clínicos y patológicos. Además, el diagnóstico de LES puede preceder, seguir o coincidir con el diagnóstico de enfermedad de KFD. Sin embargo, algunas características patológicas podrían ser útiles para la distinción como es la presencia de cuerpos hematoxilínicos en los sinusoides como también en las áreas de necrosis. Grado C. Evidencia nivel IV.

**Figura 1.** Sección de ganglio linfático presentando nódulos necróticos confluentes de tamaño variable y de localización paracortical formados por focos cariorrécticos e histiocitos. Tincion de mieloperoxidasa.




**Bibliografia**


1. R. Dorfman, G. Berry (1988) Kikuchi's histiocytic necrotizing lymphadenitis: an analysis of 108 cases with emphasis on differential diagnosis. Semin Diagn Pathol. Nov;5(4):329-45.
2. W Y Tsang, J K Chan, C S Ng (1994) Kikuchi's lymphadenitis. A morphologic analysis of 75 cases with special reference to unusual features. Am J Surg Pathol. Mar;18(3):219-31.
3. T Kuo (1995) Kikuchi's disease (histiocytic necrotizing lymphadenitis). A clinicopathologic study of 79 cases with an analysis of histologic subtypes, immunohistology, and DNA ploidy. Am J Surg Pathol. Jul;19(7):798-809. doi: 10.1097/00000478-199507000-00008.
4. T. Tanaka, M. Ohmori, S. Yasunaga, et al (1999) DNA typing of HLA class II genes (HLA-DR, -DQ and -DP) in Japanese patients with histiocytic necrotizing lymphadenitis (Kikuchi's disease) Tissue Antigens. Sep;54(3):246-53. doi: 10.1034/j.1399-0039.1999.540305.x.
5. S. Pileri, F. Facchetti, S Ascani (2001) Myeloperoxidase expression by histiocytes in Kikuchi's and Kikuchi-like lymphadenopathy. Am J Pathol. Sep;159(3):915-24. doi: 10.1016/S0002-9440(10)61767-1.
6. X. Bosch, A. Guilabert, R. Miquel, E. Campo (2004) Enigmatic Kikuchi-Fujimoto disease: a comprehensive review. Am J Clin Pathol. Jul;122(1):141-52. doi: 10.1309/YF08-1L4T-KYWV-YVPQ.
7. D. Vremec, M. O'Keeffe, H. Hochrein, et al (2006) Production of interferons by dendritic cells, plasmacytoid cells, natural killer cells, and interferon-producing killer dendritic cells. Blood. Feb 1;109(3):1165-73. doi: 10.1182/blood-2006-05-015354.

8. Z H Shah 1, S Harris, J L Smith, E Hodges (2009) Monoclonality and oligoclonality of T cell receptor β gene in angioimmunoblastic T cell lymphoma. J Clin Pathol. Feb;62(2):177-81. doi: 10.1136/jcp.2007.054239.

9. J. Young Song, J. Lee, D. Won Park, et al (2009) Clinical outcome and predictive factors of recurrence among patients with Kikuchi's disease. Int J Infect Dis. May;13(3):322-6. doi: 10.1016/j.ijid.2008.06.022.

10. Chien-Yu Cheng, Wang-Huei Sheng, Yi-Chun Lo, et al (2010) Clinical presentations, laboratory results and outcomes of patients with Kikuchi's disease: emphasis on the association between recurrent Kikuchi's disease and autoimmune diseases. J Microbiol Immunol Infect. Oct;43(5):366-71. doi: 10.1016/S1684-1182(10)60058-8.

11. G. Dumas, V. Prendki, J. Haroche, et al (2014) Kikuchi-Fujimoto disease: retrospective study of 91 cases and review of the literature. Medicine (Baltimore). Nov;93(24):372-382. doi: 10.1097/MD.0000000000000220.

12. F Pepe, S Disma, C Teodoro, et al (2016) Kikuchi-Fujimoto disease: a clinicopathologic update Pathologica. Sep;108(3):120-129.

13. T. Tabata, K. Takata, T. Miyata-Takata et al (2018) Characteristic Distribution Pattern of CD30-positive Cytotoxic T Cells Aids Diagnosis of Kikuchi-Fujimoto Disease. Appl Immunohistochem Mol Morphol. Apr;26(4):274-282. doi: 10.1097/PAI.0000000000000411.

14. N. Sukswai, H. Ra Jung, S. S Amr (2020) Immunopathology of Kikuchi-Fujimoto disease: A reappraisal using novel immunohistochemistry marker Histopathology. Aug;77(2):262-274. doi: 10.1111/his.14050.

15. G. Scott, J. Kumar, J. Oak (2020) Histology-Independent Signature Distinguishes Kikuchi-Fujimoto Disease/Systemic Lupus Erythematosus-Associated Lymphadenitis From Benign and Malignant Lymphadenopathies. Am J Clin Pathol. Jul 7;154(2):215-224. doi: 10.1093/ajcp/aqaa036.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Proliferaciones linfoides no neoplásicas: Síndrome linfoproliferativo autoinmune

**Natalia Papaleo**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Parc Tauli, Barcelona*

## DEFINICIÓN

El síndrome linfoproliferativo autoinmune (ALPS) es un error innato o adquirido de la inmunidad asociada con una expansión característica de linfocitos T CD4 y CD8 doblemente negativos (DNT) con la presencia del receptor de células T αβ(+) maduros. Es causado por una falla de la apoptosis de los linfocitos, que conduce a una acumulación aberrante de linfocitos T, asociado a defectos de la línea germinal o somáticos en la vía de apoptosis mediada por FAS.

## EPIDEMIOLOGÍA Y RASGOS CLINICOS

La mayoría de los casos sucede en la edad pediátrica, pero el diagnóstico también debe considerarse en pacientes adultos. Se describe una predilección por el sexo masculino.

Se caracteriza por linfadenopatías, hepatoesplenomegalia y un mayor riesgo de linfoma de células B. Los pacientes a menudo presentan citopenias crónicas multilínea debido a la destrucción periférica autoinmune y/o secuestro esplénico de células sanguíneas. Sin embargo, se debe evitar la esplenectomía ya que predispone a una sepsis potencialmente mortal.

Los ganglios linfáticos y el bazo son los principales sitios de afectación; con menor frecuencia, se ven afectados sitios extraganglionares, como la médula ósea.

El ALPS se asocia con un mayor riesgo de linfomas de células B, incluido el linfoma de Hodgkin clásico, el linfoma de Burkitt y el linfoma de células T, entre otros.

## MUTACIONES CARACTERÍSTICAS

Las mutaciones heterocigotas en el gen FAS son la causa más común de esta entidad, denominada ALPS-FAS. Se describen otros subtipos como son el ALPS con mutación de la línea germinal FAS (ALPS-FAS), ya sea homocigótica (autosómica recesiva) o heterocigótica (autosómica dominante); ALPS con mutación somática FAS (ALPS-sFAS); ALPS con otra mutación de la línea germinal de la vía FAS especificada (FASLG, CASP10, CASP8, FADD); ALPS con mutación subyacente desconocida (ALPS-U).

## RASGOS HISTOPATOLÓGICOS

Los ganglios linfáticos presentan una hiperplasia folicular reactiva con algunos folículos linfoides hiperplásicos y otros atróficos; con una hiperplasia paracortical prominente, a expensas de linfocitos

DNT y células plasmáticas que no presentan restricción de cadenas ligeras. En el area paracortical también pueden visualizarse histiocitos con imágenes de emperipolesis, concordantes con enfermedad de Rosai-Dorfman, lo que puede ser una pista para el diagnóstico subyacente. Asimismo, puede presentarse una enfermedad coexistente relacionada con IgG4.

**PANEL INMUNOHISTOQUÍMICO Y ESTUDIO DE CLONALIDAD**

Los linfocitos DNT aumentados son CD45RAþ, CD45RO– y positivos para los marcadores citotóxicos como son la perforina, TIA-1 y CD57. El índice de proliferación valorado con el Ki67 es alto.

Los linfocitos DNT tienen un repertorio restringido, lo que aumenta la preocupación por posibles resultados falsos positivos de clonalidad de células T.

**RECOMENDACIONES**

1. Para establecer el diagnóstico de ALPS se deben seguir los criterios diagnósticos actuales divididos en 2 criterios obligatorios y 6 criterios accesorios. Los mismos se basan en la presencia de ambos criterios obligatorios más un criterio accesorio primario. El diagnóstico probable de ALPS se basa en la presencia de ambos criterios obligatorios más un criterio accesorio secundario. Grado C. Evidencia nivel IV.

**REVISED DIAGNOSTIC CRITERIA AND CLASSIFICATION FOR THE AUTOIMMUNE LYMPHOPROLIFERATIVE SYNDROME (ALPS): REPORT FROM THE 2009 NIH INTERNATIONAL WORKSHOP**

Obligatorio

- Presencia de linfadenopatías o esplenomegalia de forma crónica (> 6 meses), sin evidencia de malignidad ni de etiología infecciosa, o ambas.
- Células DNT CD3+TCRαβ+CD4–CD8– elevadas (≥ 1,5 % de los linfocitos totales o 2,5 % de los linfocitos CD3+) en el contexto de recuentos de linfocitarios normales o elevados.

Accesorio

- Primario
  - Apoptosis defectuosa de linfocitos (en 2 ensayos separados).
  - Mutación somática o de línea germinal en FAS, FASLG o CASP10.
- Secundarios
  - Niveles elevados de sFASL plasmático (>200 pg/ml) o niveles elevados de interleucina-10 plasmática (>20 pg/ml) o niveles elevados de vitamina B12 sérica o plasmática (>1500 ng/l) o niveles elevados de interleucina-18 plasmática >500 pg/ml.
  - Hallazgos inmunohistológicos típicos revisados por un hematopatólogo experimentado.
  - Citopenias autoinmunes (anemia hemolítica, trombocitopenia o neutropenia) y niveles elevados de inmunoglobulina G (policlonal) hipergammaglobulinemia).
  - Antecedentes familiares de adenopatías no malignas/ni infecciosa

**Figura 1.** Ganglio linfático con la presencia de folículos linfoides hiperplásicos e hiperplasia paracortical.

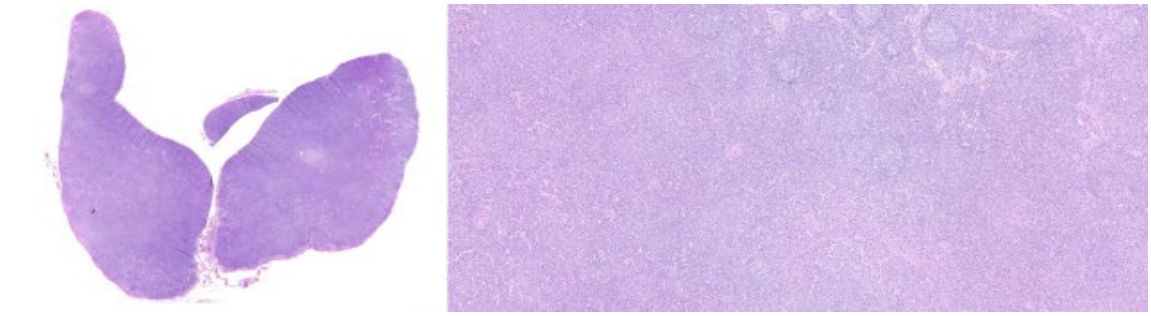


**Figura 2.** Presencia de linfocitos doble negativos para CD4 y CD8 comparados con el CD3.

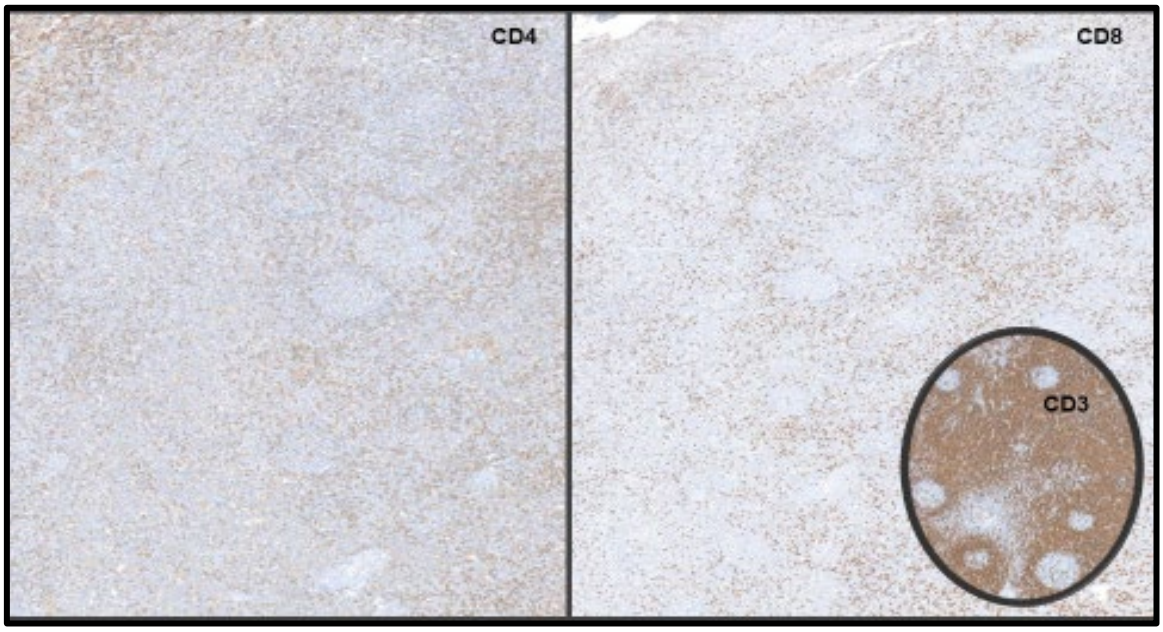
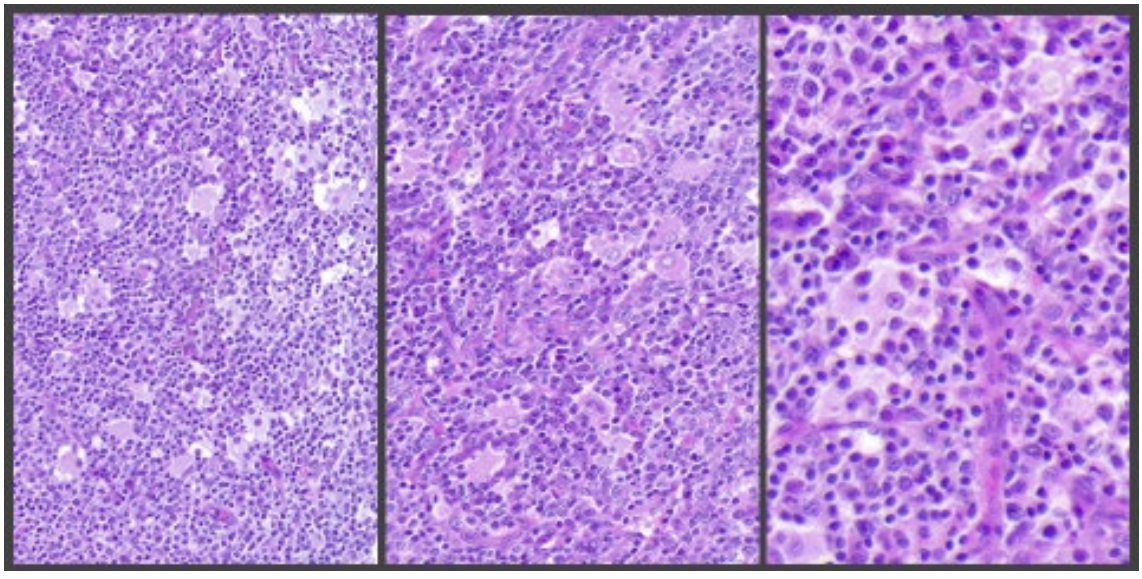



**Figura 3.** En el area paracortical pueden visualizarse figuras de emperipoleis concordantes con enfermedad de Rosai-Dorfman.



**Bibliografía**


1. S. Straus, E. Jaffe, J. Puck, et al (2001) The development of lymphomas in families with autoimmune lymphoproliferative syndrome with germline Fas mutations and defective lymphocyte apoptosis. Blood. Jul 1;98(1):194-200. doi: 10.1182/blood.v98.1.194.

2. A. Bristeau-Leprince, V. Mateo, A. Lim (2008) Human TCR alpha/beta+ CD4-CD8- double-negative T cells in patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome express restricted Vbeta TCR diversity and are clonally related to CD8+ T cells. J Immunol. Jul 1;181(1):440-8. doi: 10.4049/jimmunol.181.1.440.

3. J. Oliveira, J. Bleesing, U. Dianzani, et al (2010) Revised diagnostic criteria and classification for the autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS): report from the 2009 NIH International Workshop. Blood. Oct 7;116(14):e35-40. doi: 10.1182/blood-2010-04-280347.

4. G. Venkataraman, K. McClain, S. Pittaluga, et al (2014) Development of disseminated histiocytic sarcoma in a patient with autoimmune lymphoproliferative syndrome and associated Rosai-Dorfman disease. Am J Surg Pathol. Apr;34(4):589-94. doi: 10.1097/PAS.0b013e3181d5ddf8.

5. S.Price, P. Shaw, A. Seitz, et al (2014) Natural history of autoimmune lymphoproliferative syndrome associated with FAS gene mutations. Blood. Mar 27;123(13):1989-99. doi: 10.1182/blood-2013-10-535393.

6. A. van de Ven, M. Seidl, V. Drendel, et al (2017) IgG4-related disease in autoimmune lymphoproliferative syndrome. Clin Immunol. Jul:180:97-99. doi: 10.1016/j.clim.2017.05.003. Epub 2017 May 3.

7. D. Gratzinger, E. Jaffe, A Chadburn, et al (2017) Primary/Congenital Immunodeficiency: 2015 SH/EAHP Workshop Report-Part 5. Am J Clin Pathol. Feb 1;147(2):204-216. doi: 10.1093/ajcp/aqw215

8. Y. Xie, S. Pittaluga, S. Price et al (2017) Bone marrow findings in autoimmune lymphoproliferative syndrome with germline FAS mutation. Haematologica. Feb;102(2):364-372. doi: 10.3324/haematol.2015.138081.

9. J. Carrasquillo, C.Chen, S. Price, et al (2019) 18F-FDG PET Imaging Features of Patients With Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome. Clin Nucl Med. Dec;44(12):949-955. doi: 10.1097/RLU.0000000000002816.

10. S. Tangye, W. Al-Herz, A. Bousfiha, et al (2020) Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. J Clin Immunol. Jan;40(1):24-64. doi: 10.1007/s10875-019-00737-x.

11. R. Razzaghi, S. Agarwal, N. Kotlov, et al (2021) Compromised counterselection by FAS creates an aggressive subtype of germinal center lymphoma. J Exp Med. Mar 1;218(3):e20201173. doi:10.1084/jem.20201173.

12. M. López-Nevado, J. Docampo-Cordeiro, J. Ramos, et al (2021) Next Generation Sequencing for Detecting Somatic FAS Mutations in Patients With Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome. Front Immunol. Apr 29:12:656356. doi: 10.3389/fimmu.2021.656356.

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Proliferaciones linfoides no neoplásicas: Proliferación linfoblástica T indolente

**Natalia Papaleo**
*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Parc Tauli, Barcelona*

## DEFINICIÓN

La proliferación linfoblástica T indolente (iT-LBP) es una expansión no clonal extratímica de linfoblastos T poco frecuente; que presentan un fenotipo de células T inmaduras, un curso clínico indolente y un pronóstico excelente.

## EPIDEMIOLOGÍA Y RASGOS CLINICOS

Puede haber un ligero predominio en el sexo masculino y la mayoría de los casos descritos han sido en individuos jóvenes y pediátricos.

Afecta con mayor frecuencia a los ganglios linfáticos de la región cervical y orofaríngea pero también se ha descrito afectación de ganglios abdominales, retroperitoneales y en los tejidos linfoides del tracto aerodigestivo superior. Cabe destacar que no se ha identificado iT-LBP en la médula ósea.

Aunque su patogenia no está clara, se ha encontrado que iT-LBP está asociado con entidades que incluyen la enfermedad de Castleman, los sarcomas de células dendríticas foliculares, el linfoma angioinmunoblástico de células T, el carcinoma hepatocelular, la miastenia grave y el carcinoma de células acinares, entre otros.

## RASGOS HISTOPATOLÓGICOS

Se caracterizan por la presencia de láminas o cluster densos de linfoblastos T en localizaciones extratímicas y sin tejido tímico asociado. Estas proliferaciones no son destructivas y respetan la arquitectura tisular, pudiendo encontrarse en las áreas interfoliculares y paracorticales del ganglio linfático. Las células son de tamaño pequeño a mediano, con cromatina blástica, nucléolos poco visibles y carecen de atipia citológica. Las mitosis son frecuentes.

## PANEL INMUNOHISTOQUÍMICO Y ESTUDIO DE CLONALIDAD

Presentan el inmunofenotipo de los timocitos inmaduros siendo CD3, TdT, doblemente positivos para CD4/CD8; Sin embargo, se puede observar un fenotipo doblemente negativo. CD10, CD99, CD33 y CD1a se expresan de forma variable. CD34 y LMO2 son negativos. El índice de proliferación valorado con el Ki-67 es alto, entre el 40 % y el 90 %.

El estudio de reordenamientos del gen *TCR* muestran una población policlonal.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

El diagnóstico diferencial incluye a la leucemia linfoblástica aguda de células T (LLA-T), la presencia de timo ectópico y el timoma.

Son pistas útiles para la diferenciación de la LLA-T las características clínico-patológicas como la ausencia de afectación de la médula ósea, la presencia de masa mediastínica, la atipia manifiesta o la anomalía inmunofenotípica como la expresión antigénica aberrante de CD34, CD33, CD79a y LMO2 y el reordenamiento del gen *TCR*.

## RECOMENDACIONES

1. El diagnóstico se establece ante la presencia de grupos confluentes de células T TdT positivas, de tamaño pequeño a mediano sin atipia citológica, en una muestra de biopsia. Son cuadros con evidencia clínica de indolencia (seguimiento >6 meses sin progresión) Grado C. Evidencia nivel IV.

2. Para el diagnóstico debe excluirse la presencia de epitelio tímico, siendo la queratina negativa en iT-LB. La ausencia de reordenamientos clonales del gen TCR y la ausencia de afectación de la médula ósea y de mediastino son otras condiciones que ayudan al diagnóstico diferencial con la LLA-T. Grado C. Evidencia nivel IV.

## Bibliografía


1. R. Ohgami, S. Zhao, J. Ohgami, et al (2012) TdT+ T-lymphoblastic populations are increased in Castleman disease, in Castleman disease in association with follicular dendritic cell tumors, and in angioimmunoblastic T-cell lymphoma. Am J Surg Pathol 2012 Nov;36(11):1619-28. doi: 10.1097/PAS.0b013e318264e223

2. R. Ohgami, D. Arber, J. Zehnder, et al (2013) Indolent T-lymphoblastic proliferation (iT-LBP): a review of clinical and pathologic features and distinction from malignant T-lymphoblastic lymphoma. Adv Anat Pathol. May;20(3):137-40. doi: 10.1097/PAP.0b013e31828d17ec

3. M. Walters, M. Pittelkow, R. Hasserjian, et al (2018) Follicular Dendritic Cell Sarcoma With Indolent T-Lymphoblastic Proliferation Is Associated With Paraneoplastic Autoimmune Multiorgan Syndrome. Am J Surg Pathol. Dec;42(12):1647-1652. doi: 10.1097/PAS.0000000000001158

4. M. Pizzi, S. Brignola, S. Righi, et al (2018) Benign TdT-positive cells in pediatric and adult lymph nodes: a potential diagnostic pitfall. Hum Pathol. Nov:81:131-137. doi: 10.1016/j.humpath.2018.06.027.

5. N. Brar, A. Butzmann, J. Kumar, et al (2020) LIM domain only 2 (LMO2) expression distinguishes T-lymphoblastic leukemia/lymphoma from indolent T-lymphoblastic proliferations. Histopathology. Dec;77(6):984-988. doi: 10.1111/his.14176

6. A. Saglam, K. Singh, S. Gollapudi, et al (2022) Indolent T-lymphoblastic proliferation: A systematic review of the literature analyzing the epidemiologic, clinical, and pathologic features of 45 cases. Int J Lab Hematol. Aug;44(4):700-711. doi: 10.1111/ijlh.13873.

7. A. Ghezavati, C. Liang, D. Mais, et al (2023) Indolent T-lymphoblastic proliferation involving hepatocellular carcinoma-presentation in novel settings and comprehensive review of literature. J Hematop. Sep;16(3):167-175. doi: 10.1007/s12308-023-00554-7

# Consenso SEAP-GELTAMO-GOTEL: Proliferaciones linfoides asociadas a inmunodeficiencia y disregulación inmune

**Carlos Aliste, Máximo Fraga**
*Servicio de Anatomía Patológica, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago, Santiago de Compostela*

## DEFINICIÓN

El déficit inmunitario es un factor de riesgo para el desarrollo de síndromes linfoproliferativos, formando un grupo heterogéneo de entidades, tanto desde un punto de vista clínico como etiológico, clasificándose, históricamente, en base al contexto de la deficiencia inmunitaria en la que surgen (asociados a trasplante, infección por VIH, inmunodeficiencias primarias y otras inmunodeficiencias iatrogénicas).

En la actualidad, la 5ª edición de la clasificación de la OMS (2022) establece una nomenclatura en la que el diagnóstico resulta de la integración de tres partes:

- Las características histológicas.
- La presencia y/o ausencia de virus oncogénicos.
- La condición inmunológica de base.

El enfoque multidisciplinar, resultado de la suma de los rasgos histológicos junto con una detallada evaluación de la historia clínica y el estado inmunológico del paciente, ha permitido definir las siguientes entidades:

- Hiperplasias en contexto de deficiencia/disregulación inmunitaria.
- Síndromes linfoproliferativos polimórficos en contexto de deficiencia/disregulación inmunitaria.
- Úlcera mucocutánea EBV positiva.
- Linfomas en contexto de deficiencia/disregulación inmunitaria.
- Proliferaciones linfoides y linfomas asociados a errores innatos de inmunidad.

## HIPERPLASIAS EN CONTEXTO DE DEFICIENCIA/DISREGULACIÓN INMUNITARIA

Son un grupo heterogéneo de proliferaciones de hábito linfoide y/o plasmocítico, no clonales, que suelen respetar los rasgos arquitecturales del tejido subyacente y surgen debido a la alteración de la inmunovigilancia de las células T o de función inmune. Suelen estar provocadas por virus (EBV…),

aunque existen otras causas (etiología autoinmune, relacionadas con tratamiento, entorno posterior al trasplante, etc.).

Presentan una localización ganglionar (linfadenopatía localizada y/o generalizada) y extraganglionar (amígdalas, adenoides, bazo, etc.), en función de la inmunodeficiencia/disregulación inmune subyacente.

Histológicamente, se identifican infiltrados linfoides y/o plasmocíticos, con conservación o ligera distorsión del tejido afecto. Existe variabilidad en los patrones de presentación de estas proliferaciones, siendo frecuente en forma de hiperplasias foliculares, con centros germinales reactivos (CD10+, BCL6+, BCL2-) que pueden estar acompañadas de hiperplasias paracorticales, Es habitual la presencia de linfocitos dispersos, EBV+, en áreas interfoliculares y, en menor medida, dentro de los folículos reactivos. Los infiltrados plasmocíticos son politípicos. A veces, se identifican células grandes o con rasgos similares a las células HRS, que pueden imitar un linfoma de Hodgkin clásico u otros tipos de linfomas. También se han identificado proliferaciones de células T e histiocíticas; especialmente, las hiperplasias autoinmunes pueden mostrar abundantes células T, sin rasgos atípicos. En algunas ocasiones, se han descrito cambios morfológicos de tipo enfermedad de Castleman.

En las hiperplasias de células B no se advierte monoclonalidad en reordenamientos de IGH. Se pueden identificar picos clonales sobre fondo policlonal en reordenamientos de TCR.

## PROCESOS LINFOPROLIFERATIVOS POLIMÓRFICOS EN CONTEXTO DE DEFICIENCIA/DISREGULACIÓN INMUNITARIA

Los procesos linfoproliferativos polimórficos que pueden surgir en cualquier entorno de inmunodeficiencia, sobre todo, posterior al trasplante; corresponden a infiltrados linfoides heterogéneos, constituidos por cantidades variables de células B, que muestran diferente espectro morfológico. Son proliferaciones de células B monoclonales u oligoclonales, en cuya etiología, está implicado, mayoritariamente, el EBV.

Habitualmente, están afectados los ganglios linfáticos, aunque no es exclusiva dicha localización, pudiendo identificarse en otros territorios linfoides (adenoides) o en otras localizaciones extraganglionares (pulmón, tracto gastrointestinal…). La médula ósea puede verse afectada.

En cuanto a la histopatología, se advierte un amplio amplio abanico morfológico, que puede variar dentro de la localización de la lesión y/o entre los diferentes territorios afectados del mismo paciente. Se identifica un borramiento arquitectural por un infiltrado linfoide, en el que se aprecian cantidades variables de células B, que muestran variabilidad morfológica, incluyendo células pequeñas, células plasmocitoides, células plasmáticas, plasmablastos e inmunoblastos (en ocasiones, estos últimos pueden mostrar rasgos pleormórficos/«sternbergoides»), acompañadas de células T e histiocitos. Puede existir necrosis. No se identifican áreas difusas constituidas por células B de tamaño grande. En relación con el inmunofenotipo, las células B grandes atípicas y/o con rasgos «sternbergoides», expresan de manera variable CD45, CD30 y marcadores de células B; es frecuente la expresión de MUM1 y no es habitual para CD15. La positividad para EBV, fundamentalmente determinada por hibridación «in situ» (EBER), se advierte en proporciones variables en células pequeñas y grandes.

Estos síndromes linfoproliferativos polimórficos muestran reordenamientos de IGH monoclonsles u oligoclonales, que permiten excluir hiperplasias.

## ÚLCERA MUCOCUTÁNEA EBV POSITIVA

Es un trastorno linfoproliferativo que, generalmente, afecta a las mucosas (cavidad oral, amígdalas, tracto gastro-intestinal…) y a la piel, habitualmente en forma de lesiones ulceradas localizadas (se han descrito casos multifocales), que no se acompañan de síntomas sistémicos, hepatoesplenomegalia,

linfadenopatía ni afectación medular. Suelen presentarse en pacientes de edad avanzada con inmudeficiencia/disregulación, en los que el EBV está presente en todos los casos.

Morfológicamente, se identifica una lesión ulcerada, bien delimitada, en la que se aprecia un infiltrado linfoide polimórfico, con células B grandes, atípicas, en ocasiones con rasgos «sternbergoides». Se acompañan de componente celular inflamatorio que incluye linfocitos, células plasmáticas, histiocitos y eosinófilos. Puede identificarse la presencia de necrosis y otros rasgos histológicos como la angioinvasión y la trombosis. Es habitual la presencia de un borde denso de linfocitos pequeños en la base de la lesión. Las células B grandes, atípicas y/o con rasgos tipo células de Reed-Sternberg, EBV positivas, muestran inmunorreactividad para marcadores de células B y con frecuencia expresan CD30, siendo poco habitual la positividad para CD15. En la base de la lesión el componente linfocitario corresponde a células T, que expresan CD3.

Se ha descrito monoclonalidad en reordenamientos de IGH y TCR en el análisis mediante PCR, en, aproximadamente, un tercio de los casos.

## LINFOMAS EN CONTEXTO DE DEFICIENCIA/DISREGULACIÓN INMUNITARIA

Existe una amplia variedad de linfomas que surgen en casos de deficiencia/disregulación inmunitaria, entre los que encontramos linfomas de células B, linfoma de Hodgkin clásico y linfomas de células T. Con frecuencia, se asocian a EBV y/o KSHV/HHV8. Pueden afectar a ganglios linfáticos y tener localización extraganglionar, siendo esta última más habitual que en procesos linfoproliferativos similares desarrollados en pacientes inmunocompetentes. En el contexto del trasplante de órganos, puede identificarse afectación del aloinjerto.

### Linfoma B difuso de células grandes

Los LBDCG que surgen en el contexto de deficiencia/disregulación inmune muestran unas características histológicas e inmunofenotípicas análogas a las identificadas en el LBDCG NOS y/o al LBDCG NOS, EBV+. En algunos casos puede identificarse componente celular con rasgos rasgos similares a células de tipo Reed-Sternberg o se observa un microambiente rico en células T e histiocitos. En cuanto a las alteraciones genéticas, se pueden identificar anomalías de MYC y BCL6, pero las translocaciones en BCL2 no son frecuentes.

### Neoplasias de células B pequeñas

En el contexto de deficiencia/disregulación inmune han sido descritos el linfoma linfoplasmocítico, el plasmocitoma, el linfoma de la zona marginal ganglionar y el linfoma de la zona marginal extraganglionar. Los criterios diagnósticos son análogos a los de dichas neoplasias en pacientes inmunocompetentes. El linfoma de la zona marginal ganglionar suele mostrar una diferenciación plasmocítica intensa.

### Linfoma de Burkitt

Este tipo de linfoma es más frecuente en personas que conviven con con el VIH que en otros contextos de deficiencia inmunitaria. Aunque los criterios para establecer el diagnóstico son los mismos que para el LB en pacientes inmunocompetentes, histológicamente pueden presentar una mayor variabilidad en la forma y el tamaño de las células neoplásicas. Puede tener diferenciación plasmocítica, mostrando este hallazgo una mayor asociación con el EBV.

### Linfoma de Hodgkin clásico

En contextos de deficiencia inmunitaria, los subtipos celularidad mixta y esclerosis nodular son los más frecuentes dentro del linfoma de Hodgkin clásico, mayoritariamente relacionados con el EBV. Además de los rasgos inmunofenotípicos habituales en este tipo de linfomas, como es la expresión para CD15 y CD30 en las células de tipo Reed-Sternberg, pueden existir algunas diferencias, como es una mayor frecuencia en la positividad para CD20, CD19 y CD79a. Este último hallazgo puede plantear un diagnóstico diferencial con un linfoma de la zona gris del mediastino. No obstante, en contextos de deficiencia inmunitaria, no se recomienda establecer este último diagnóstico, excepto en casos que sean EBV negativos y estén localizados en región mediastínica.

### Linfomas de células T

Los linfomas de células T en el contexto de deficiencia/disregulación inmunitaria, no son frecuentes. Entre las entiades que se han descrito están el linfoma de células T periférico, linfoma de células T/NK extraganglionar, linfoma anaplásico de células grandes, linfoma de células T con fenotipo TFH, etc. La mayoría suele presentar negatividad para EBV.

## PROLIFERACIONES LINFOIDES Y LINFOMAS ASOCIADOS A ERRORES INNATOS DE INMUNIDAD

Son un grupo heterogéneo de entidades, en forma de proliferaciones infiltrativas o formadoras de masas, constituidas por células B y, en menor medida, por células T, causadas por un error innato en la inmunidad subyacente. Entre ellas encontramos las deficiencias predominantemente de anticuerpos (inmundeficiencia variable común, agammaglobulinemia, etc.), que representan el grupo más frecuente, las inmunodeficiencias combinadas (inmunodeficiencia combinada severa, displasias inmuno-óseas,…) y otros errores innatos en la regulación inmune (síndrome de disregulación inmune autosómico dominante, etc).

Aunque la mayoría de los pacientes presentan estos procesos linfoproliferativos en la infancia, pueden desarrollarse en etapas más tardías, como en el caso de la inmunodeficiencia variable común. Muestran un ligero predominio en varones y existen diferencias en la prevalencia en función de la distribución geográfica. La mayoría de los linfomas asociados a errores innatos de inmunidad ocurren en pacientes con inmunodeficiencias combinadas.

Pueden afectar ganglios linfáticos o mostrar una presentación extraganglionar (hígado, bazo, tracto gastrointestinal,…).

Histopatológicamente, se advierte un espectro heterogéneo de entidades entre las que se encuentran linfomas, siendo habituales el LBDCG EBV +/-., linfoma de Hodgkin clásico, linfoma de Burkitt y linfoma de la zona marginal; además, se identifica una mayor frecuencia de linfomas de células T. También, pueden desarrollarse procesos previamente comentados como son hiperplasias (en la inmunodeficiencia variable común llama la atención la presencia centros germinales agrandados, pobremente definidos, y el descenso en células plasmáticas), síndromes linfoproliferativos polimórficos, etc.

## TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

**Biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto:** Es el método de elección.

**Punción-biopsia con aguja gruesa (BAG):** Es la aproximación a utilizar en el caso en que no se pueda realizar una biopsia escisional/incisional por la situación clínica del paciente. Véase capítulo obtención de las muestras para diagnóstico hematopatológico.

**Punción-aspiración con aguja fina (PAAF):** La citología no es suficiente y es preferible una biopsia histológica para establecer el diagnóstico definitivo.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

Los síndromes linfoproliferativos que surgen en el contexto de deficiencia/disregulación inmunitaria comparten algunas características histopatológicas que hacen plantear un diagnóstico diferencial entre las diferentes entidades comentadas anteriormente y una amplia variedad de procesos entre los que se incluyen la mononucleosis infecciosa, las hiperplasias inespecíficas, enfermedad relacionada con IgG4, etc.

Para establecer este diagnóstico diferencial debe realizarse una adecuada correlación clínico-patológica. Es necesario un estudio IHQ apropiado y frecuentemente determinaciones moleculares.

## PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ)

Los síndromes linfoproliferativos asociados a deficiencia/disregulación inmune requieren estudio inmunofenotípico completo y, en la mayoría de los casos, estudio molecular complementario.

**Panel de primera línea:**

- CD45, CD20, CD79a, CD3, PAX5, OCT2, CD30, CD15, MUM1 y cadenas ligeras κ/λ.
- Hibridación «in situ» para EBV (EBER).

**Paneles de segunda línea:**

- Paneles para diagnóstico diferencial de subtipos específicos de linfomas B y de linfomas T: BCL2, BCL6, CD10, CD2, CD5, CD7, CD4, CD8, CD56, Ki67, ALK y marcadores citotóxicos.

## CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

Se recomienda análisis de clonalidad linfoide B y T (reordenamientos de TCR e IGH) mediante PCR, especialmente en casos en los que se plantea un diagnóstico diferencial entre un proceso linfoproliferativo polimórfico e hiperplasias.

El análisis de FISH es necesario para demostrar la presencia de traslocaciones de MYC, BCL2 y BCL6 en aquellos casos de linfomas de células B agresivos que se desarrollan en contextos de deficiencia/disregulación inmunitaria.

Es recomendable una prueba genética de la línea germinal para aquellos casos asociados a errores innatos de inmunidad.

## RECOMENDACIONES

1. La biopsia incisional/escisional es el método de elección en los casos de sospecha de un síndrome linfoproliferativo asociado a deficiencia/disregulación inmune.
2. El contexto clínico/antecedentes de inmudeficiencia es determinante para establecer el diagnóstico de estos procesos linfoproliferativos.

3. Panel de primera línea: CD45, CD20, CD79a, CD3, PAX5, OCT2, CD30, CD15, MUM1, cadenas ligeras κ/λ e hibridación «in situ» para EBV (EBER).

4. Paneles de segunda línea para diagnóstico diferencial de subtipos específicos de linfomas B y de linfomas T.

5. La presencia de clonalidad en el estudio molecular mediante PCR de los genes IGH y TCR ayuda a establecer el diagnóstico entre entidades en las que se solapan rasgos morfológicos e inmunofenotípicos, como son el proceso lifoproliferativo polimórfico y las hiperplasias.

**Bibliografía**


1. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leukemia. 2022 Jul;36(7):1720-1748.

2. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. Blood. 2022;140(11):1229-1253.

3. Quintanilla-Martinez L, Swerdlow SH, Tousseyn T, et al. New concepts in EBV-associated B, T, and NK cell lymphoproliferative disorders.Virchows Arch. 2023 Jan; 482(1):227-244.

4. Natkunam Y, Gratzinger D, Chadburn A, et al. Immunodeficiency-associated lymphoproliferative disorders: time for reappraisal?. Blood. 2018 Nov 1;132 (18):1871–1878.

5. Natkunam Y, Gratzinger D, de Jong D, et al. Immunodeficiency and Dysregulation: Report of the 2015 Workshop of the Society for Hematopathology/European Association for Haematopathology. Am J Clin Pathol. 2017 Feb 1;147 (2):124–128.

6. Pina-Oviedo S, Miranda RN, Medeiros LJ. Cancer therapy-associated lymphoproliferative disorders: an under-recognized type of immunodeficiency-associated lymphoproliferative disorder. Am J Surg Pathol. 2018 Jan;42 (1):116–129.

7. Tangye SG, Al-Herrz W, Bousfiha A, et al. The ever-increasing array of novel inborn errors of immunity: an interim update by the IUIS Committee.J Clin Immunol. 2021 Apr 41(3): 666-679.

8. Tangye SG, Al-Herrz W, Bousfiha A, et al. Human inborn errors of immunity: 2022 update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. J Clin Immunol. 2022 Oct; 42(7): 1473-1507.

9. Linke-Serinsöz E, Fend F, Quintanilla-Martinez L. Human immunodeficiency virus (HIV) and Epstein-Barr virus (EBV) related lymphomas, pathology view point. Semin Diagn Pathol. 2017 Jul; 34(4): 352-363.

10. Fujimoto M, Kaku Y, Hirata M, et al. EBV-positive mucocutaneous ulcer with small lymphocytic infiltration mimicking nonspecic ulceration. Am J Surg Pathol. 2021 May 1;45(5): 694-700.

11. Kurita D, Miyoshi H, Ichikawa A, et al. Methotrexate-associated lymphoproliferative disorders in patients with rheumatoid arthritis: clinicopathologic features and prognostic factors. Am J Surg Pathol. 2019 Jul; 43(7):869-884.

12. Dojcinov SD, Fend F, Quintanilla-Martinez L. EBV-Positive lymphoproliferations of B- T- and NK-cell derivation in non -immunocompromised hotss.Pathogens. 2018 Mar 7; 7(1):28.

# Recomendaciones del Grupo de Trabajo de Patología Mamaria de la SEAP

# Correlación radio-patológica en patología de mama

**Edna Rocío Quinteros[1], Ignacio Miranda[2], Vicente Peg[3]**

1. *Clínica Colsanitas, Grupo Keralty, Bogotá (Colombia)*
2. *International Breast Cancer Center, Barcelona*
3. *Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona*

## INTRODUCCION

El cáncer de mama es el más común entre las mujeres españolas, con más de 36000 nuevos casos estimados para 2024 según datos de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). Aunque la mortalidad ha disminuido gracias a la detección precoz y mejores tratamientos, sigue siendo la principal causa de muerte por cáncer entre mujeres.

La posibilidad de detectar lesiones malignas en etapas tempranas y potencialmente curables ha mejorado gracias a la evolución de las técnicas de imagen, así como el aumento en el número de biopsias percutáneas con aguja gruesa guiadas por imagen, que se han convertido en el estándar de atención desde la década del 2000. Históricamente el pilar del diagnóstico patológico era la biopsia escisional quirúrgica, por lo que las ventajas de la biopsia mínimamente invasiva guiada por imágenes incluyen menor tiempo de recuperación, mínima cicatrización, menores costos, mayor seguridad y una mejor planificación terapéutica.

Sin embargo, en algunas lesiones benignas y atípicas hay un riesgo de aumento o evolución a diagnóstico de malignidad de carcinoma in situ o carcinoma invasivo en la resección quirúrgica, y para su interpretación y manejo es vital el enfoque multidisciplinario que incluye la correlación radio-patológica.

La correlación clínico-radiológica y patológica entonces se basa en que los hallazgos histopatológicos expliquen los hallazgos imagenológicos y representen la lesión sospechosa y que lo examinado en la biopsia no se trate de un hallazgo incidental. Los puntos clave para esta correlación son:

- CLINICOS:
  - Edad
  - Presentación clínica
  - Factores de riesgo para cáncer de mama
- RADIOLOGICOS:
  - Nivel de sospecha
  - Selección y muestreo adecuado
- PATOLOGICOS:
  - Diagnostico anatomopatológico
  - Hallazgos específicos versus hallazgos incidentales
  - Extensión de la lesión o número de focos
  - Presencia de otras lesiones de riesgo asociadas

## SISTEMA DE CLASIFICACION RADIOLOGICA – BIRADS

El Sistema de Informes y Datos de Imágenes Mamarias (BI-RADS) es un sistema estandarizado para reportar y definir el grado de sospecha de los hallazgos identificados en mamografía, ultrasonido (US) y resonancia magnética (RM). Antes de la creación del léxico BI-RADS, los informes podían resultar ambiguos, lo que a su vez dificultaba el manejo clínico por parte de los médicos que los recibían. El BI-RADS es un sistema que garantiza la estandarización del informe y la categorización del seguimiento de las lesiones mamarias.

Las categorías de evaluación, probabilidad de malignidad y recomendación de manejo del sistema BI-RADS son:

- 0: Incompleto: Se necesita evaluación adicional de imágenes o estudios previos para comparación.
- 1: Negativo: ~0 % de probabilidad de malignidad, se recomienda cribado rutinario.
- 2: Hallazgo benigno: (p. ej., quiste): ~0 % de probabilidad de malignidad, se recomienda cribado rutinario.
- 3: Probablemente benigno (p. ej., probable fibroadenoma, asimetría parenquimatosa focal): <2 % de probabilidad de malignidad, se recomienda seguimiento a los 6, 12 y 24 meses; si el hallazgo permanece estable, se considera benigno (BI-RADS 2).
- 4: Sospechoso. Se requiere estudio histológico.
  - - 4a: 2-10 % de probabilidad de malignidad (baja sospecha).
  - - 4b: 10-50 % de probabilidad de malignidad (sospecha moderada).
  - - 4c: 50-95 % de probabilidad de malignidad (alta sospecha).
- 5: Altamente sugestivo de malignidad: >95 % de probabilidad de malignidad, se requiere estudio histológico.
- 6: Malignidad confirmada por biopsia: Indicación de tratamiento.

Cuando se utiliza correctamente, cada descriptor o combinación de descriptores señala un diagnóstico diferencial y un nivel de sospecha específico, por ejemplo, describir una masa ovalada de baja densidad con márgenes circunscritos sugiere un diagnóstico particular, como un quiste, fibroadenoma o papiloma. Esto contrasta notablemente con las implicaciones de una masa densa e irregular con márgenes espiculados, que podría corresponder a un carcinoma ductal invasivo de grado nuclear bajo o intermedio. No obstante, es importante destacar que existe una considerable variabilidad entre los lectores al elegir descriptores y términos, incluso dentro del propio léxico, lo cual podría deberse a diferencias en la percepción y al solapamiento de las características de imagen (ver Tabla 1).

## HALLAZGOS RADIOLOGICOS ESPECIFICOS: MICROCALCIFICACIONES

Las microcalcificaciones detectadas mediante mamografía son un hallazgo significativo, ya que representan hasta el 55 % de los tumores malignos no palpables y constituyen entre el 85 % y el 95 % de los casos de carcinoma ductal in situ. Por ello, al realizar biopsias debido a la presencia de microcalcificaciones, es fundamental tener en cuenta varios aspectos. En primer lugar, es necesario llevar a cabo un examen radiográfico de la muestra, lo que permite confirmar la presencia de las microcalcificaciones en la muestra. Además, tras el muestreo, es crucial colocar un marcador para identificar con precisión el sitio de la biopsia.

Asimismo, el diagnóstico patológico debe ser coherente con la morfología de las microcalcificaciones observadas en las imágenes. Esta correlación entre los hallazgos mamográficos y el diagnóstico patológico es esencial para garantizar un seguimiento adecuado del paciente. Cabe destacar que el valor predictivo positivo de malignidad asociado a las microcalcificaciones es del 21,7 %, lo que subraya la importancia de una evaluación exhaustiva y precisa en estos casos.

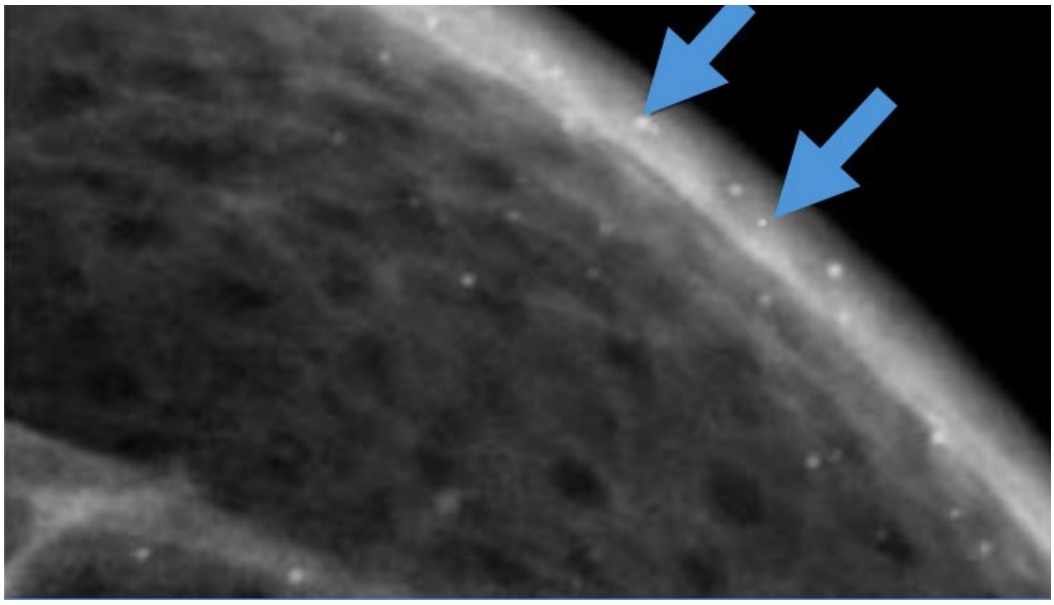
En el léxico del sistema BI-RADS hay una estratificación del riesgo de acuerdo con la morfología y distribución de las calcificaciones

Clasificación de las calcificaciones en función de su morfología.

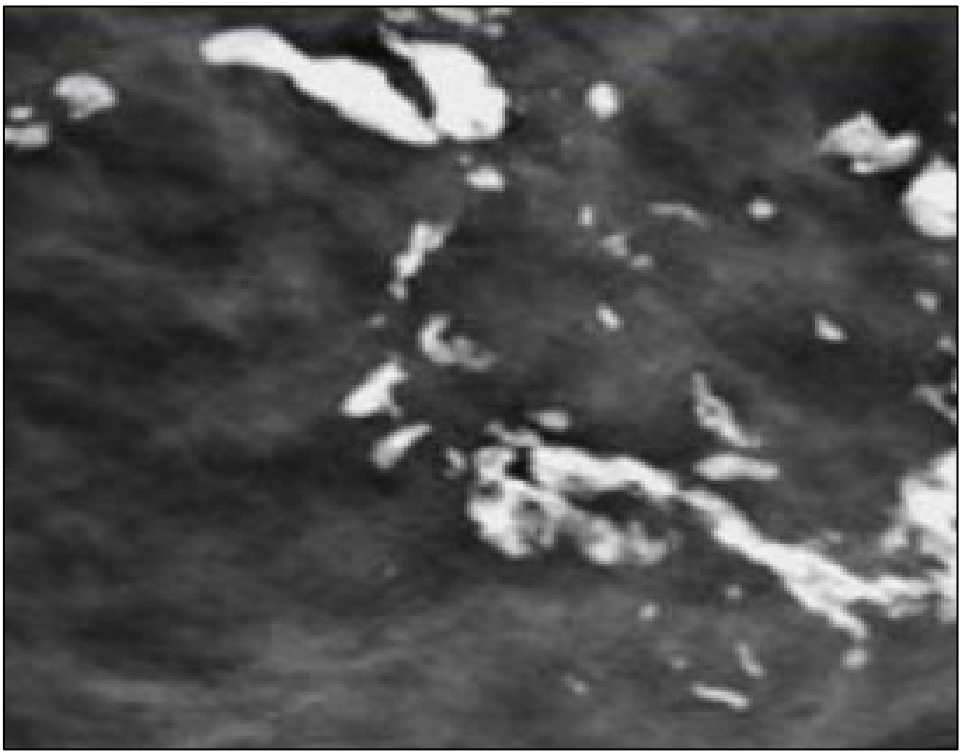
**Calcificaciones típicamente benignas**

- **Calcificaciones vasculares:** Calcificaciones de los capilares mamarios con imagen típica en doble carril. Corresponden a una visión tangencial de cada pared vascular.

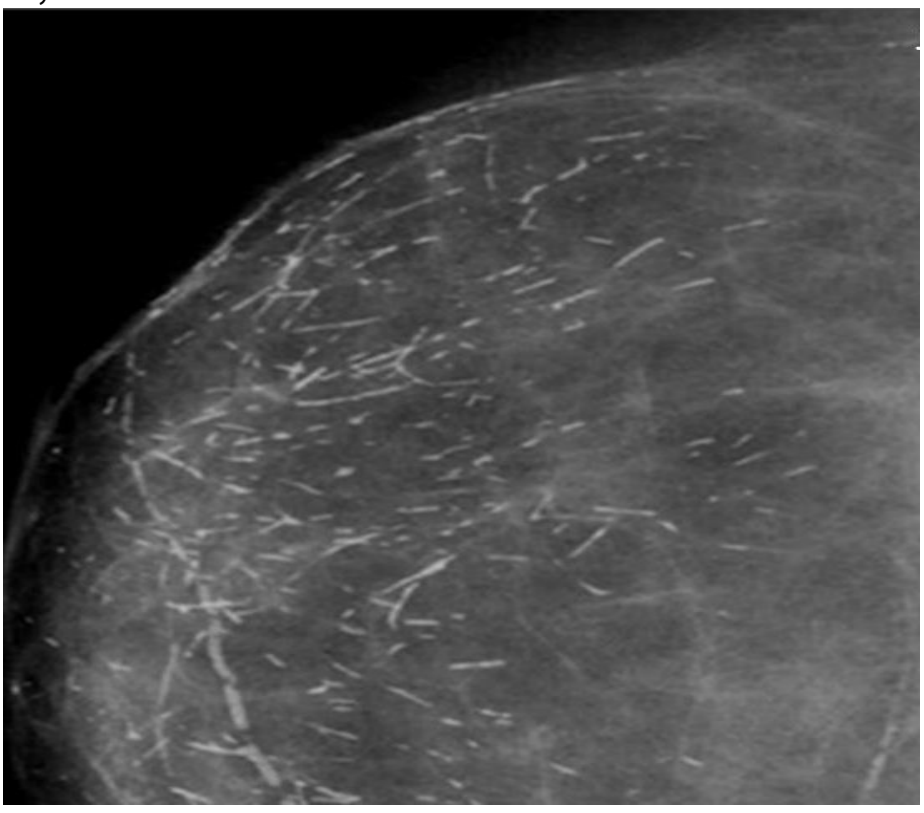
- **Calcificaciones cutáneas:** Calcificaciones tenues, superficiales y dispersas. Típicamente cutáneas, corresponden a pequeñas calcificaciones de las glándulas sebáceas, generalmente asociadas a procesos inflamatorios como la foliculitis crónica.



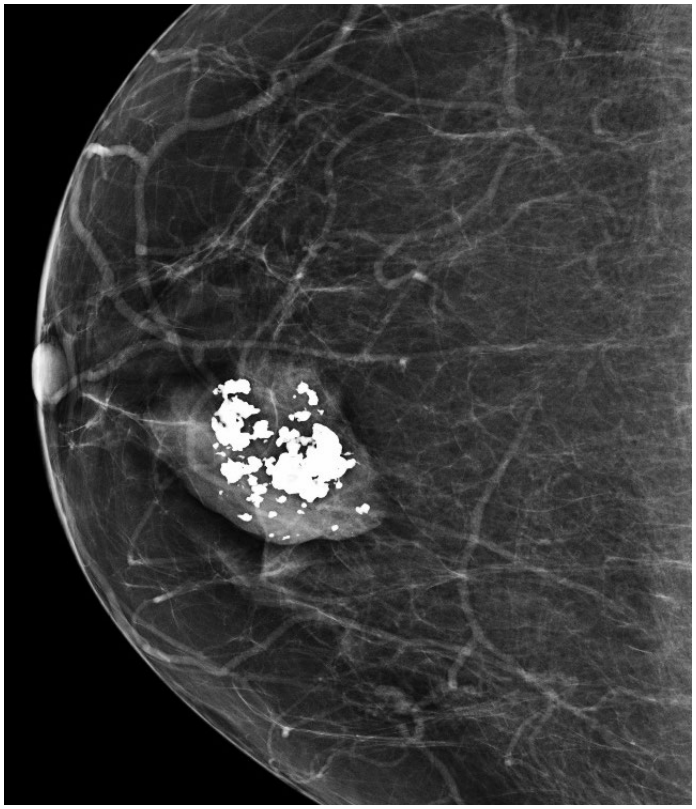
- **Calcificaciones distróficas:** Corresponden a necrosis grasa tras una agresión/traumatismo en el tejido mamario, son frecuentes después de cirugía y radioterapia. Son calcificaciones gruesas, mayores a 1mm, irregulares y que tienden a la coalescencia. En ocasiones palpables.



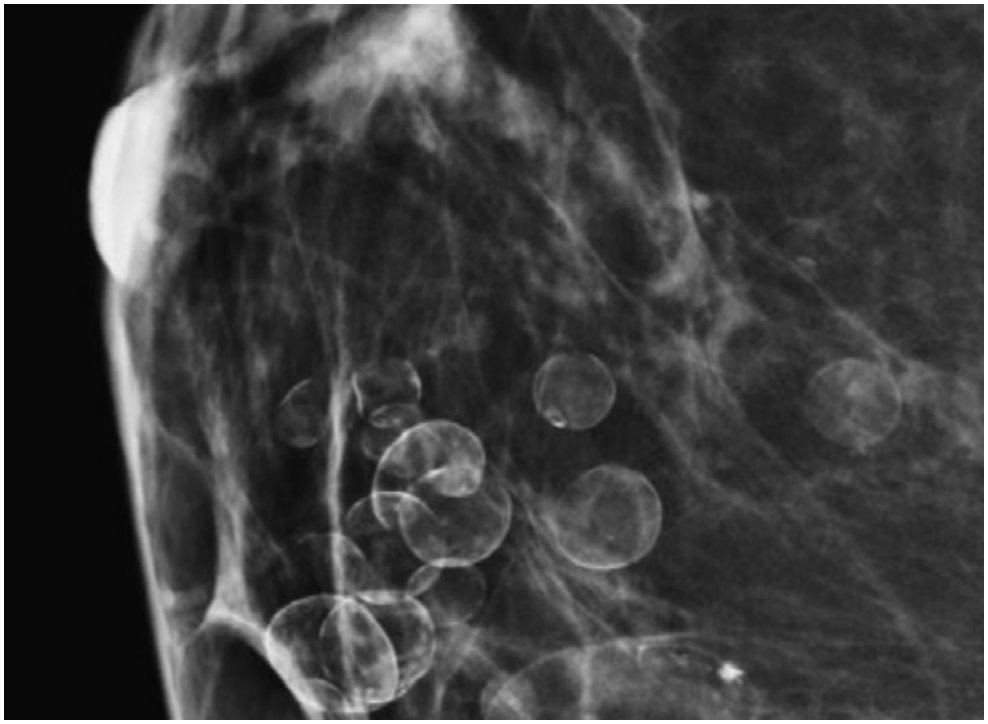
- **Calcificaciones lineales gruesas:** También llamadas «secretoras», corresponden a calcificaciones ubicadas en los conductos y se asocian con ectasia ductal o mastitis de células plasmáticas. Son calcificaciones lineales, lisas, suelen ser bilaterales y más frecuentes en mayores de 60 años.



- **Calcificaciones gruesas popcorn-like:** Conocidas como calcificaciones en popcorn o «palomita de maíz» por ser calcificaciones densas, gruesas, mayores de 2-3mm y que con el tiempo tienden a la coalescencia. Son típicas de fibroadenomas en involución, es posible ver el contorno de un nódulo bien delimitado asociado a la calcificación.

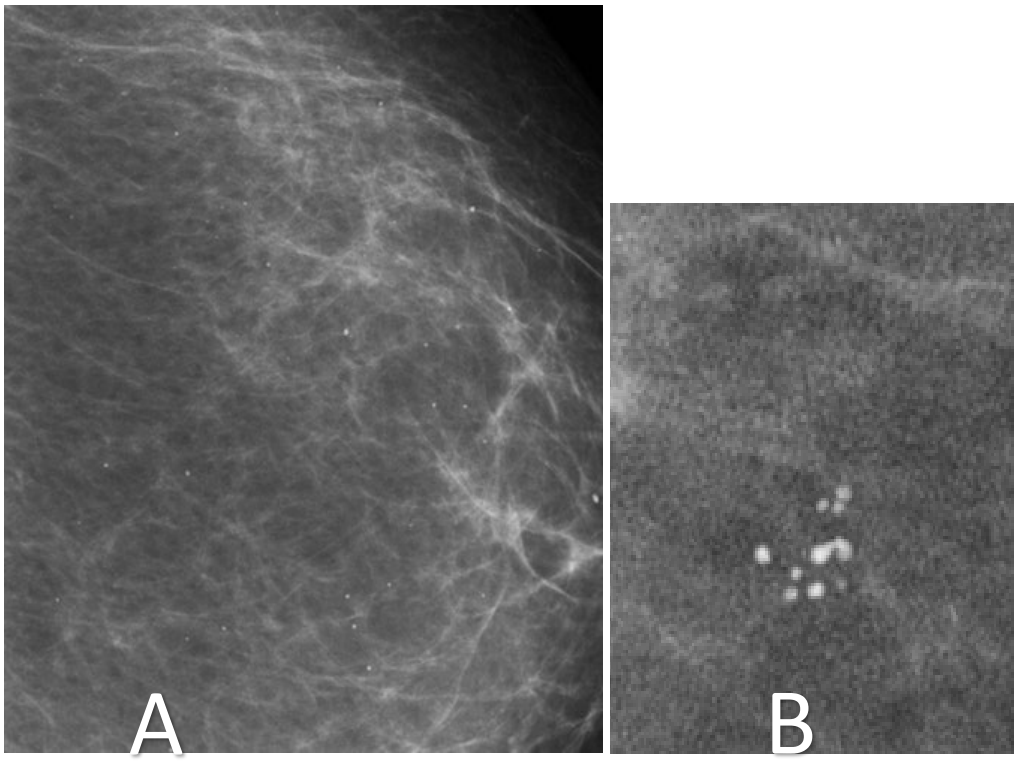


- **Calcificaciones en anillo:** Muestran una calcificación centrípeta, con centro radiolúcido. Corresponden a lesiones quísticas encapsuladas que contienen grasa en estado líquido. Miden desde unos pocos milímetros hasta centímetros. Suelen relacionarse con antecedentes de traumatismo o cirugía, aunque pueden ocurrir de manera espontánea.



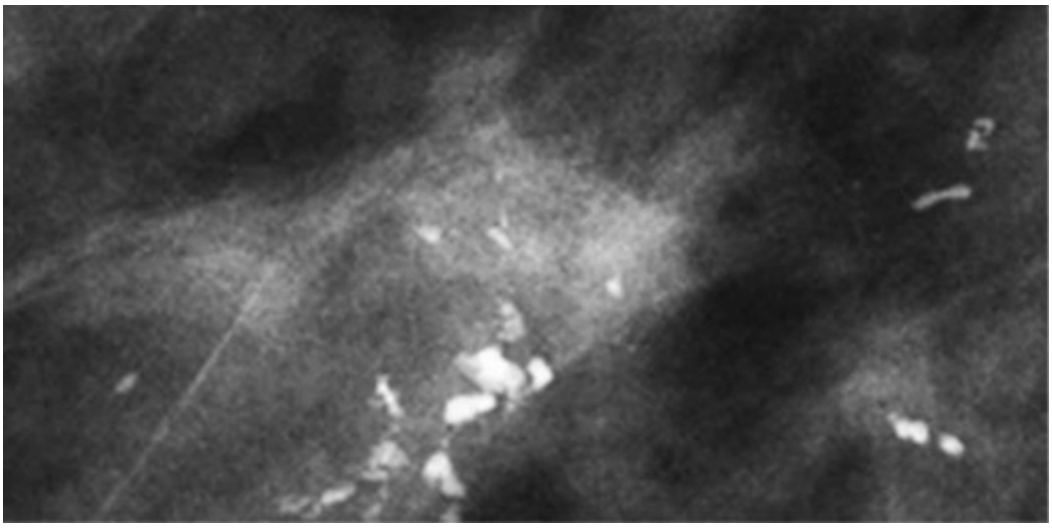
- **Calcificaciones en «lechada de cal»:** Pequeñas partículas de oxalato de calcio que sedimentan en el interior de quistes. Estas calcificaciones son menos evidentes en la proyección cráneo-caudal donde suelen observarse tenues, y se visualizan mejor en las proyecciones medio lateral oblicua o lateral estricta, donde presentan forma de semiluna de concavidad superior o de morfología lineal.

- **Calcificaciones redondas/puntiformes:** Presentan una morfología redonda y tienen su origen a nivel acinar o lobulillar. Se les denomina redondas cuando son mayores de 0,5mm y puntiformes cuando son menores a este tamaño, suelen corresponder también a depósitos de oxalato de calcio. Cuando son aisladas o difusas se consideran benignas (A), si se observan agrupadas se catalogan como categoría BI-RADS 3 (B) y requieren un control a corto plazo (6 meses).

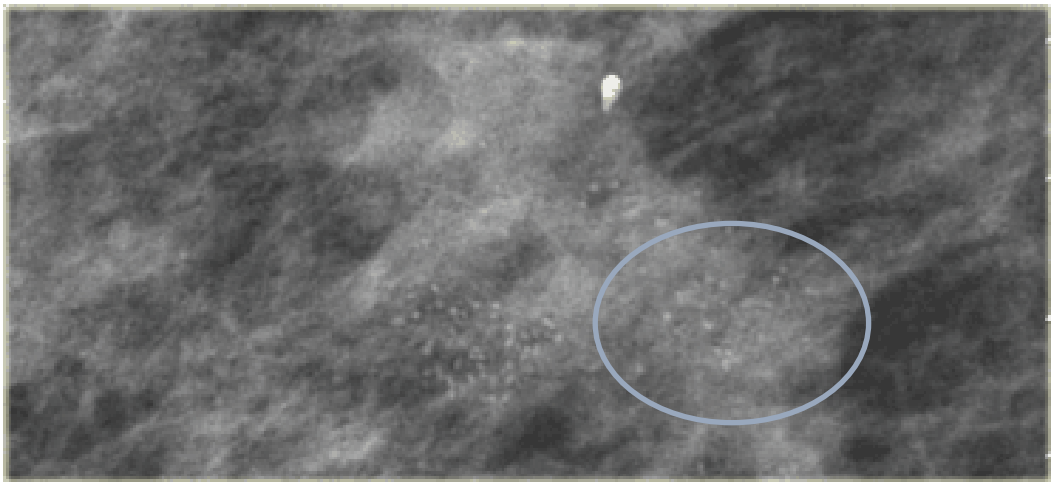


**Calcificaciones de morfología sospechosa**

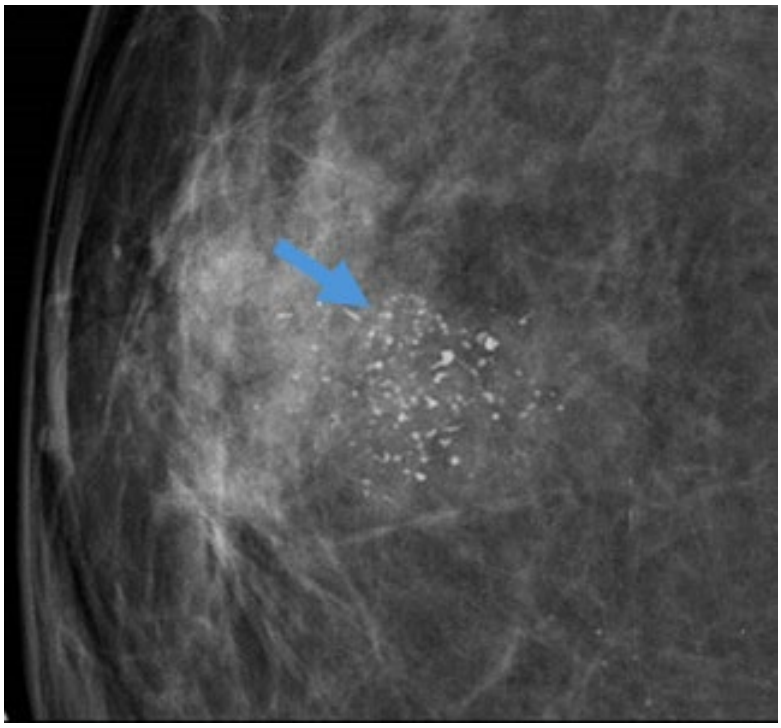
- **Calcificaciones groseras heterogéneas:** Son calcificaciones irregulares y nítidas que tienden a la coalescencia. Con frecuencia, tienen su origen en lesiones benignas como fibroadenomas involutivos, áreas de fibrosis o trauma. Sin embargo, un grupo único y sin nódulo definido asociado (fibroadenoma hialinizado) presenta un valor predictivo positivo cercano al 15 %, por lo que se catalogan como categoría 4B.



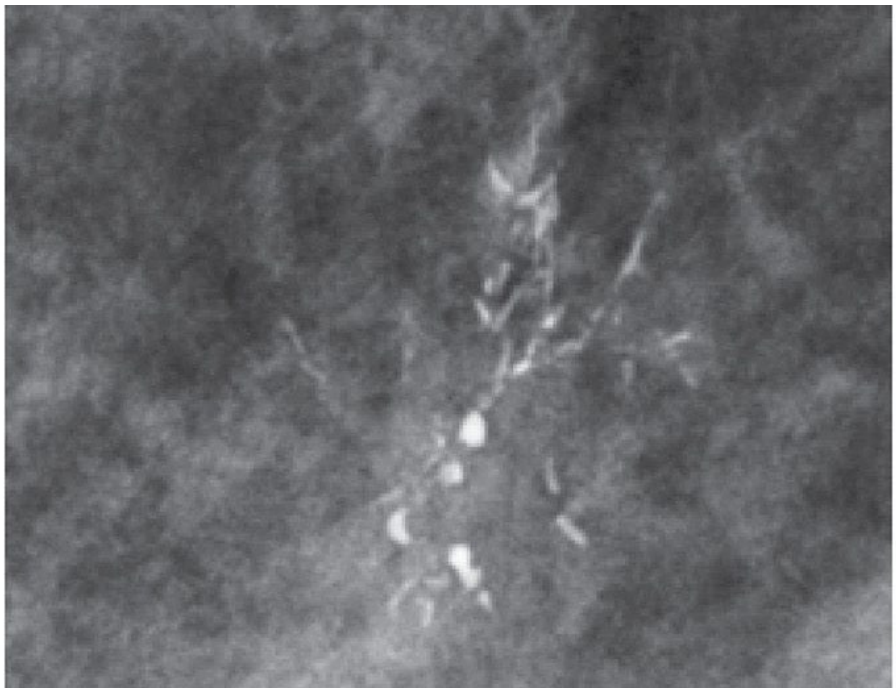
- **Calcificaciones amorfas:** También llamadas «en polvo» corresponden a calcificaciones inferiores a los 0,1mm, no es posible contarlas ni determinar su forma. De ahí su nombre «a-morfas» (sin forma). Cuando están agrupadas, presentan una distribución segmentaria o lineal, pueden deberse a lesiones de alto riesgo o malignas por lo que se catalogan como categoría 4B, con un valor predictivo positivo de aproximadamente un 20 %.



- **Calcificaciones finas pleomórficas.** Corresponden a calcificaciones de diferentes formas y tamaños, con medidas menores que las calcificaciones groseras heterogéneas. Su valor predictivo positivo es de un 29 % y se catalogan como categoría BI-RADS 4B.



- **Calcificaciones lineales finas o lineales ramificadas:** Son calcificaciones pequeñas, menores a 0,5mm, finas y lineales. Se originan por la presencia de detritus calcificado en el interior de conductos comprometidos por carcinoma. Pueden ramificarse en distintas direcciones y de las calcificaciones sospechosas, éstas tienen el valor predictivo positivo para malignidad más alto (70 %) correspondiendo a la categoría BI-RADS 4C. Cuando estas microcalcificaciones están ramificadas y muestran una distribución segmentaria pueden considerarse dentro de la categoría BI-RADS 5.



**Clasificación de las calcificaciones en función de su distribución.**

Se trata de una clasificación en función de la disposición de las calcificaciones en el interior de la mama y, respecto a la probabilidad de malignidad, es tan importante como la morfología.

- **Distribución difusa:** Calcificaciones distribuidas aleatoriamente dentro de la mama. Habitualmente son benignas, especialmente si son bilaterales.
- **Distribución regional:** Calcificaciones con patrón de distribución en un área extensa, mayor a 2cm en su eje mayor. Pueden abarcar más de un cuadrante, su riesgo de malignidad es bajo siendo, en función de su morfología, la probabilidad de malignidad de aproximadamente un 26 %.
- **Distribución agrupada:** Se refiere a la existencia de al menos 5 calcificaciones en 1cm2. Deben estar agrupadas en ambas proyecciones para considerarlas como tal, puesto que pueden corresponder a superposición de calcificaciones. Se consideran benignas o sospechosas según la morfología de cada grupo.
- **Distribución lineal:** Calcificaciones que se disponen en un trayecto lineal que puede ramificarse, corresponden a depósito de calcio dentro de un conducto. Se describe una probabilidad de malignidad de alrededor de un 60 %. Existen calcificaciones como las vasculares o lineales gruesas que pueden presentar esta distribución, sin embargo, presentan una morfología característicamente benigna.
- **Distribución segmentaria:** Se trata de calcificaciones con disposición siguiendo la forma anatómica de un lóbulo mamario, en forma de triángulo cuyo vértice se dirige hacia el pezón. Habitualmente, es una distribución sospechosa, con una probabilidad de malignidad de alrededor de un 62 %.

**Correlación radio-patológica de las calcificaciones**

- **Morfología:** Existen calcificaciones típicamente benignas (vasculares, cutáneas, distróficas, lineales secretoras, gruesas popcorn, en anillo y en lechada de cal).
  Las calcificaciones puntiformes/redondas son habitualmente benignas, sin embargo, pueden sugerir la presencia de CDIS de bajo grado.
  Las calcificaciones gruesas no asociadas a un nódulo circunscrito o no popcorn-like, pueden sugerir la existencia de reacción desmoplásica en el estroma de un carcinoma invasivo.
  Las calcificaciones finas o finas ramificadas suelen traducir la presencia de necrosis intraductal secundaria a la presencia de un CDIS de alto grado.
- **Distribución:** Calcificaciones con distribución difusa sugiere benignidad.
  La presencia de calcificaciones agrupadas o, en menor medida, con distribución regional puede sugerir la existencia de algunos tipos de lesión de potencial maligno incierto (como papiloma, HDA) o algunos casos de CDIS (frecuentemente de grado bajo/medio).
  Una disposición lineal o, en mayor medida, segmentaria puede sugerir la presencia de CDIS extenso de alto grado.
- **Tamaño:** En términos generales, las microcalcificaciones grandes de al menos 1mm suelen ser más benignas que aquellas cuyo tamaño es inferior a 0,5mm. Sin embargo, existen

excepciones, ya que las calcificaciones gruesas y heterogéneas de más de 1mm de tamaño pueden asociarse con lesiones malignas.

- **Número de calcificaciones:** Un grupo de 10 o más microcalcificaciones en un volumen inferior a 1 cm2 es más sospechoso que un grupo de 5 de idéntica morfología. La presencia de un elevado número de microcalcificaciones agrupadas se ha correlacionado con CDIS de alto grado y la presencia de necrosis.

## HALLAZGOS RADIOLOGICOS ESPECIFICOS: MASAS

Las masas (nódulos) es el hallazgo más frecuente identificado en las diferentes técnicas de imagen. Según la nomenclatura BI-RADS, al describir una masa, hay que poner especial atención en una serie de características. Evaluando dichas características, podremos definir un grado de sospecha y decidir un adecuado manejo.

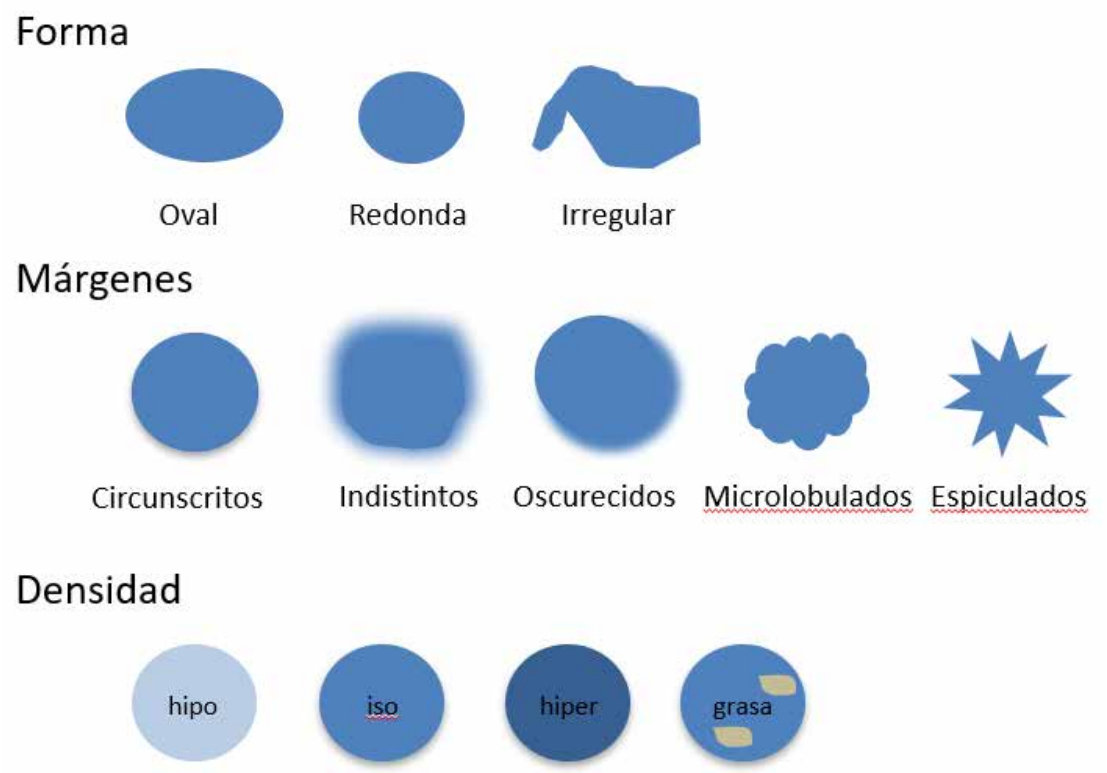
Cualquier masa irregular, con crecimiento perpendicular a la piel, hipoecogénica por ecografía, hiperdensa por mamografía y rápida captación de contraste por RM sugiere malignidad.

Sin embargo, existen excepciones como son aquellos tumores muy proliferativos que pueden incluso asociar necrosis. Éstos pueden mostrar una forma oval o redonda debido a su crecimiento expansivo e incluso objetivarse de márgenes prácticamente circunscritos, puede ser el caso de los tumores triple negativos.

Caso especial es el de los quistes mamarios que se observan completamente anecoicos, circunscritos y redondos u ovalados, siendo patognomónico de benignidad.

**Características de las masas por ecografía.**

**Características de las masas por mamografía.**




**Características de las masas por Resonancia Magnética**

La RM aporta una información adicional que es el patrón de realce tras la administración de contraste. Por ello, más que en la morfología de la lesión, pondremos especial atención al tipo de captación.

- Realce tipo masa
  - Homogéneo
  - Heterogéneo
  - En anillo
  - Con presencia de septos en su interior
- Realce no masa

**Correlación radio-patológica de las masas**

- **Forma**
  Un nódulo o masa con morfología oval sugiere benignidad, el ejemplo típico es el fibroadenoma. La morfología irregular siempre sugiere la necesidad de estudio histológico.
  Una masa de morfología redonda puede sugerir, excepto en el caso de los quistes, lesiones de riesgo como papilomas o tumores de tipo mucinoso.

- **Orientación**
  Una orientación, eje mayor de la lesión paralelo a piel, es sugestivo de benignidad. Es importante que la sospecha de benignidad, por una orientación paralela, se acompañe de una morfología ovalada y unos márgenes circunscritos.

- **Márgenes**
  Los márgenes circunscritos indican habitualmente lesiones benignas, fibroadenomas y quistes presentan estos márgenes. Por el contrario, la presencia de unos márgenes no circunscritos debe plantear la necesidad de estudio histológico.
  Cabe destacar que tumores muy proliferativos, tipo triple negativo, pueden presentar unos márgenes expansivos que en ocasiones pueden simular unos márgenes circunscritos.

- **Ecogenicidad/Densidad**
  La ecogenicidad ecográfica se refiere a la visualización de la lesión respecto la grasa. Lesiones isoecogénicas (ecogenicidad grasa) e hiperecogénicas sugieren benignidad, la hipoecogenicidad es una característica de sospecha (con excepción de los quistes, que son completamente anecoicos).
  La densidad mamográfica se basa en la visualización de la lesión respecto al tejido glandular. En este caso, lesiones iso e hipodensas (incluyendo densidad grasa) sugieren benignidad. Por el contrario, una masa hiperdensa nos debe plantear la necesidad de estudio histológico.

- **Realce por Resonancia Magnética**
  Una captación precoz heterogénea o anular nos debe hacer sospechar, esta última (anular) típica de tumores muy proliferativos como es el caso de los tumores triple negativo.
  El realce progresivo homogéneo y/o con septos en su interior suele ser característico de lesiones benignas, típicamente fibroadenomas.
  Un realce de tipo no masa, que no puede definirse como claro nódulo, sugiere típicamente lesiones tipo CDIS o CLI.

- **Distorsión arquitectural**
  La distorsión arquitectural es un hallazgo mamográfico que se detecta con mayor precisión mediante tomosíntesis digital de mama en comparación con la mamografía convencional. Este tipo de distorsión se asocia más comúnmente con carcinoma infiltrante de tipo no especial de grado bajo/moderado, seguido del carcinoma lobulillar. Sin embargo, también puede estar relacionado con lesiones benignas, típicamente cicatriz postquirúrgica, cicatriz radial, o adenosis esclerosante.
  Dado que la distorsión arquitectural puede tener múltiples causas, es ideal conocer la historia quirúrgica previa de la paciente, las biopsias anteriores y los exámenes de imágenes previos para un análisis más preciso. Es importante destacar que el valor predictivo positivo de malignidad en estos casos, cuando no existe antecedente quirúrgico, es del 50,7 %.

- **Tamaño tumoral**
  La evaluación radiológica del tamaño tumoral es esencial en el estudio del carcinoma de mama, y la mejora en el equipo radiológico ha hecho que las decisiones quirúrgicas dependan en gran medida de la etapa radiológica y clínica. Aunque la estadificación final se basa en la medición patológica, las mediciones radiológicas y, por ende, la estadificación clínica, dictan las opciones quirúrgicas en un número significativo de casos. Una discrepancia entre el tamaño tumoral patológico y radiológico puede llevar a un tratamiento excesivo o insuficiente del paciente, por lo que se busca una alta concordancia entre estas mediciones para asegurar una toma de decisiones de manejo precisa.
  Las técnicas de imagen utilizadas inicialmente para determinar el tamaño tumoral (T) son la mamografía/tomosíntesis y la ecografía, aceptándose como valor T inicial el mayor tamaño tumoral determinado por las dos técnicas. Tras la estimación del tamaño mediante técnicas convencionales, se realizará la biopsia de la lesión y a continuación se completa el estudio mediante resonancia magnética (RM) en las pacientes indicadas.
  El objetivo al definir el tamaño tumoral, tanto con técnicas de imagen como en el estudio histopatológico posterior de la pieza quirúrgica, es obtener la dimensión máxima del componente tumoral infiltrante.

Los estudios publicados sobre concordancia entre tamaño tumoral histopatológico y tamaño mediante técnicas de imagen muestran que la ecografía y la mamografía tienen tendencia a infraestimar el tamaño tumoral en algunos casos (especialmente en tumores mal delimitados como es el caso del CDIS o CLI).

En el caso de la RM, los estudios publicados concluyen que se trata de la técnica con mejor correlación del tamaño tumoral con la medición histopatológica frente a la mamografía y ecografía, pero con cierta tendencia a la sobreestimación.

Existen múltiples factores que determinan la precisión de la medición tumoral mediante técnicas de imagen. Éstos son tanto las características histopatológicas del tumor (tipo y grado histológico tumoral, tipo molecular, presencia o ausencia de CDIS) como las características radiológicas (patrón mamario, realce parenquimatoso de fondo en RM, forma de presentación del tumor).

Dado que la estadificación radiológica puede determinar el tipo de tratamiento quirúrgico y/o sistémico es necesario correlacionar el resultado de las pruebas radiológicas con los factores que interfieren en la medición tumoral.

En el estudio de Hamza y colaboradores en 2019, se comparó el tamaño tumoral patológico con el tamaño determinado por ultrasonografía, usando como criterio de concordancia radiológico-patológica una diferencia de +/- 2 mm. Los resultados mostraron una diferencia entre el tamaño tumoral radiológico y patológico en el 40,4 % de los casos, con una tasa de concordancia significativamente mayor para tumores de 2 cm o menos (pT1) (51,1 %) en comparación con aquellos mayores de 2 cm (pT2). En el 14,5 % de los casos, el tamaño radiológico sobreestimó el estadio del tumor.

Numerosos estudios han comparado la resonancia magnética (RM) con otras modalidades de imagen y con el examen físico en la evaluación del tamaño del tumor residual después de la terapia neoadyuvante. Estos estudios concluyeron que la RM es mucho más precisa para determinar la extensión de la enfermedad residual, con un coeficiente de correlación que varía entre 0.64 y 0.93. Sin embargo, la fibrosis posterior a la terapia complica la evaluación precisa del tamaño tumoral en las imágenes radiológicas, lo que genera una discrepancia con el tamaño patológico del tumor residual. Los carcinomas lobulillares invasivos, debido a su morfología más infiltrativa y a su patrón de crecimiento en filas individuales, presentan una menor concordancia en comparación con los carcinomas ductales invasivos (IDC).

## LESIONES DE ALTO RIESGO

Se consideran lesiones de alto riesgo la hiperplasia ductal atípica, la neoplasia lobulillar (que incluye hiperplasia lobulillar atípica y carcinoma lobulillar in situ), las lesiones papilares y las lesiones esclerosantes (cicatriz radial y lesión esclerosante compleja), dado que estas confieren un mayor riesgo de desarrollo de cáncer y por tanto de una mayor probabilidad de tener evolución a un diagnóstico maligno en la pieza quirúrgica, por lo que tradicionalmente han sido manejadas por medio de resección. En la actualidad hay una tendencia a desescalar el manejo quirúrgico y oncológico para este tipo de lesiones que podrían estar siendo sobretratadas y que se beneficiarían de observación y seguimiento, y por tanto la mejor aproximación a estos casos se basa en un análisis de correlación radio-patológica individualizado que incluya la discusión de los diferentes especialistas involucrados en el diagnóstico y manejo del cáncer de mama como es el grupo de oncología, radiología y patología.

Dentro del grupo mencionado la lesión diagnosticada por biopsia con mayor riesgo de diagnóstico de cáncer de mama en la resección quirúrgica es la hiperplasia ductal atípica, con una tasa de evolución a malignidad variable, aproximadamente del 20 %, por lo que la mayoría de casos se prefiere la escisión quirúrgica. La neoplasia lobulillar también presenta una tasa de evolución a malignidad variable en lo reportado en la literatura, aunque estudios recientes sugieren que a menor volumen de la lesión esta tasa disminuye a menos del 5 %, planteando la posibilidad de manejo expectante. En cuanto a las

lesiones papilares este riesgo ha disminuido ha cambiado con el paso del tiempo y se estima en un 10 %, siempre asociado a la presencia de atipia, por lo que en casos de lesiones papilares sin atipia la conducta a seguir debe guiarse por el consenso entre equipo de manejo y paciente. Por último las lesiones esclerosantes complejas pueden tener tasas entre 10 y 25 %, por lo que en general se prefiere la resección quirúrgica, pero en caso de lesiones pequeñas que pudieron ser removidas con la biopsia se vigilan con seguimiento estrecho radiológico.

## RECOMENDACIONES PARA MEJORAR LA CORRELACION RADIO-PATOLOGICA

### Uso de megabloques

Aunque la estadificación final del cáncer de mama se basa en el tamaño microscópico del tumor, los patólogos dependen en muchos casos de la medición macroscópica y radiológica del tamaño del tumor, especialmente en aquellos donde los tumores son grandes y no se puede confirmar el tamaño con precisión de manera microscópica. En estos casos, puede ser necesario obtener secciones adicionales de tejido, y el tamaño tumoral radiológico se vuelve crucial.

Una aproximación más precisa para medir la extensión tumoral es el uso de megabloques (macro secciones), que evalúan una mayor superficie de tejido y evitan la fragmentación del tumor en diferentes bloques, lo cual limita una medida más real del tamaño del tumor. Se ha demostrado que el uso de megabloques tiene un valor superior para una correcta clasificación del TNM, sobretodo en los casos de carcinoma lobulillar invasivo, según Jackson et al.

Además, el uso de megabloques en cáncer de mama permite evaluar de forma más completa la presencia o no de multifocalidad tanto de carcinoma in situ como carcinoma invasivo, pues está relacionada con un peor pronóstico y no siempre es evidente en los estudios de imágenes ni en el examen macroscópico. Entre otras ventajas que nos ofrece el uso de megabloques está que facilita la evaluación de los márgenes quirúrgicos y lecho tumoral en especímenes de postneoadyuvancia, en donde se aumenta la probabilidad de detectar pequeños focos residuales de neoplasia que no son visibles macroscópicamente.

### Requisitos mínimos de la solicitud clínica: comunicación entre los servicios

Es fundamental que tanto los radiólogos como los patólogos se comuniquen y correlacionen sus hallazgos de manera que se garantice el tratamiento adecuado para el paciente. El flujo de trabajo de los informes que se originan en radiología y que luego se ponen a disposición de patología, así como el proceso inverso, es esencial para asegurar el mejor tratamiento para el paciente. Abordar flujos de trabajo entre radiología y patología manteniendo adecuada comunicación para la resolución de hallazgos discordantes reduce los errores diagnósticos. La información mínima requerida junto con el envío de muestras desde radiología y cirugía a patología para asegurar una correcta comunicación entre los servicios y para garantizar una atención óptima debe contener la siguiente información:

- Tipo de procedimiento (biopsia con aguja gruesa, biopsia asistida por vacío, cirugía conservadora, mastectomía…)
- Lateralidad
- Número de lesiones radiológicas
- Localización de cada una
- Categoría BI-RADS (en caso de biopsias diagnósticas)
- Indicar si la paciente ha recibido tratamiento sistémico previo
- Tipo de tumor (subtipo histológico y molecular) en casos de piezas post-neoadyuvancia
- Tamaño radiológico pre-tratamiento

- Tamaño radiológico post-tratamiento
- Presencia o no de marcadores (y localización)
- cTNM (e ycTNM si procede)
- Otros datos que puedan resultar de interés para una correcta correlación patológica.

**Reuniones o Conferencias multidisciplinarias**

La correlación radiológico-patológica puede llevarse a cabo de manera informal por radiólogos y patólogos, quienes revisan cada caso ya sea comparando informes de imagen con la histología de biopsias con aguja gruesa (CNB) o mediante la evaluación de la concordancia entre los informes radiológicos y patológicos. En un estudio Q-Probes realizado por el Colegio de Patólogos Americanos (CAP), que involucró 1,399 casos de 48 instituciones, se informó una correlación radiológico-patológica en el 94,9 % de los casos. Este porcentaje fue más alto en casos discutidos en conferencias multidisciplinarias, mientras que fue menor cuando la correlación se basó solo en la revisión central de los informes.

Un estudio de Prakash y sus colegas analizó una serie de 1,387 pacientes presentados en una conferencia multidisciplinaria que incluyó radiología, cirugía y patología. Los casos, seleccionados por discordancias o dudas sobre el manejo clínico, representaron el 29,4 % de todas las biopsias realizadas en un período de 4 años. De los 74 casos en los que se cambió el manejo, 22 (29,7 %) pasaron de discordantes a concordantes, lo que permitió a estos pacientes evitar cirugías o imágenes en intervalos cortos. En contraste, 23 (31,1 %) casos se reclasificaron de concordantes a discordantes, lo que llevó a cirugías y al diagnóstico de cáncer de mama en 3 (13 %) de estos pacientes.

Las conferencias multidisciplinarias regulares basadas en la discusión de la correlación radiológico-patológica proporcionan recomendaciones clínicas e individualizadas en tiempo real y reducción en las tasas de discordancia, falsos negativos de las biopsias percutáneas y cirugías innecesarias. Por tanto, es necesario establecer una estandarización de estas reuniones para evaluar el impacto de la correlación radiológico-patológica prospectiva en los resultados clínicos.

**CONCLUSIONES**

La biopsia percutánea de mama guiada por imágenes, tanto para hallazgos palpables como no palpables, es ahora el estándar de atención, y establecer la concordancia radiológica-patológica es fundamental para guiar un manejo adecuado. Sin embargo, existen situaciones en las que los hallazgos son inciertos, tanto en la imagen como en la patología. En estos casos, el papel de un equipo multidisciplinario y la comprensión del contexto clínico general pueden guiar mejor el cuidado clínico.

Es esencial una estrecha correlación entre las características radiológicas e histopatológicas para asegurar que las lesiones detectadas mediante mamografía hayan sido muestreadas y diagnosticadas con precisión.

Establecer la concordancia radiológico-patológica es imperativo para el cuidado del paciente. La comunicación multidisciplinar entre radiólogo y patólogo no solo es útil para establecer la adecuación y la congruencia de la biopsia, sino que también es una herramienta educativa efectiva para ambas partes.

En resumen, la correcta comunicación entre los servicios médicos involucrados en el diagnóstico del cáncer de mama, a través de información precisa y completa, es esencial para una aproximación diagnóstica adecuada y un manejo consecuente.

**Tabla 1.** Etiologías comunes que se presentan como lesiones asimétricas en estudios de imágenes diagnosticas.

| ETIOLOGIA | MAMOGRAFIA | ULTRASONIDO | RM |
|---|---|---|---|
| **BENIGNAS**<br>**Cicatriz Radial – Lesión esclerosante compleja** | Distorsión arquitectural focal y márgenes espiculados, con centro radiolúcido. | Comúnmente visto como o distorsión del parénquima sin masa asociada | Distorsión con realce no masa que no permite descartar malignidad. |
| **Adenosis esclerosante** | Distorsión arquitectural focal +/- microcalcificaciones asociadas. Puede coexistir con cáncer invasivo e in situ. | Habitualmente distorsión sin clara masa, en raras ocasiones las microcalcificaciones pueden ser visibles por ecografía. | Distorsión con realce no masa (ídem que en cicatriz radial) |
| **Necrosis grasa** | Usualmente tanto quistes ovales radiolúcidos con capsula delgada o engrosamiento y deformidad de la piel y tejido subcutáneo. | Usualmente lesiones quísticas o solidas con ecotextura interna mixta. | Imagen distorsionada con señal de intensidad de tejido adiposo en todas las secuencias.<br>Frecuentemente realce anular de contraste. |
| **Cambios asociados a procedimientos** | Cicatriz en parénquima con distorsión arquitectural focal, patrón en remolino posterior a mamoplàstia. | Distorsión franca sin señal Doppler interna. | Distorsión sin realce significativo posterior al contraste. |
| **Lesiones benignas raras: Fibromatosis, tumor de células granulares** | Varias apariencias: Masa espiculada con distorsión arquitectural o masa redonda bien circunscrita, sin microcalcificaciones | Masa hipoecoica irregular con ensombrecimiento acústico posterior, indistinguible de malignidad. | Sin hallazgos específicos en MR. Masa de intensidad variable en secuencias T1/T2. con realce Habitualmente realce progresivo |
| **MALIGNAS**<br>**CDIS**<br>**Carcinoma infiltrante de tipo no especial y Carcinoma lobulillar infiltrante** | 1. Microcalcificaciones pleomórficas lineales o ramificadas con o sin distorsión arquitectural focal.<br>2. Masa irregular de márgenes no circunscritos, habitualmente hiperdensa<br>3. Carcinoma Lobulillar puede tener hallazgos sutiles como una asimetría isodensa respecto a la mama contralateral. | 1. Frecuentemente no muestra traducción por ecografía.<br>2. Masa hipoecoica irregular y no circunscrita, típicamente con sombra posterior.<br>3. Frecuentemente escasamente visible por ecografía, «suele palparse más que verse». | 1. Realce no masa precoz o más típicamente progresivo.<br>2. Masa irregular hipointensa con realce precoz tipo masa heterogéneo o anular en caso de tumores muy proliferativos (TN).<br>3. Realce no masa, habitualmente con gran diferencia de tamaño respecto a lo visible por mamo/ecografía |

Adaptado de Holistic Approach to Breast Disease. Bhawna Dev, Leena Dennis Joseph. Springer Nature Singapore, 2024

**Bibliografía**


1. Idowu, M. O., Shah, P. A., Hackney, M. H., Grimes, M. M., Geyer Jr, C. E., Arthur, D. W., & Bear, H. D. (Eds.). (2017). Diagnosis and Management of Breast Tumors: A Practical Handbook and Multidisciplinary Approach. Springer.
2. Tot, T., & Tabár, L. (2011). The role of radiological–pathological correlation in diagnosing early breast cancer: the pathologist's perspective. Virchows Archiv, 458, 125-131.
3. Ho, C. P., & Gillis, J. E. (2022). Best Practice Approaches to Breast Radiology–Pathology Correlation and Management. Current Breast Cancer Reports, 14(3), 47-52.
4. Ambinder, E. B., & Calhoun, B. C. (2022). Risk-Associated Lesions of the Breast in Core Needle Biopsies: Current Approaches to Radiological-Pathological Correlation. Surgical Pathology Clinics, 15(1), 147-157.
5. Dev, B., & Joseph, L. D. (Eds.). (2023). Holistic Approach to Breast Disease. Springer Nature.
6. Idowu, M. O., Hardy, L. B., Souers, R. J., & Nakhleh, R. E. (2012). Pathologic diagnostic correlation with breast imaging findings: a College of American Pathologists Q-Probes study of 48 institutions. Archives of Pathology & Laboratory Medicine, 136(1), 53-60.
7. Monica, M. A., Morandi, L., & Foschini, M. P. (2018). Utility of large sections (macrosections) in breast cancer pathology. Translational Cancer Research, 7(Suppl 3).
8. Hamza, A., Khawar, S., Sakhi, R., Alrajjal, A., Miller, S., Ibrar, W., & Ockner, D. (2019). Factors affecting the concordance of radiologic and pathologic tumor size in breast carcinoma. Ultrasound, 27(1), 45-54.
9. Tot, T. (2010). Cost-benefit analysis of using large-format histology sections in routine diagnostic breast care. The Breast, 19(4), 284-288.
10. Anderson, S., Parker, E., Rahbar, H., & Scheel, J. R. (2021). IV Ductal Carcinoma In Situ, Including its Histologic Subtypes and Grades. Current Breast Cancer Reports, 13, 398-404.
11. Nguyen, Q. D., & He, J. (2021). Invasive ductal carcinoma NST and special subtypes: radiology-pathology correlation. Current Breast Cancer Reports, 13, 347-364.
12. Oluyemi, E., Peshtani, A., White, M. J., & Cimino-Mathews, A. (2021). Radiologic and pathologic correlation of invasive lobular carcinoma of the breast. Current Breast Cancer Reports, 1-12.
13. The Importance of Radiology and Pathology Communication in the Diagnosis and Staging of Cancer: Mammography as a Case Study. The ASPE Technical Expert Panel on IMPROVING Cancer Policy Research through Information Technology. November 2010. https://aspe.hhs.gov/reports/importance-radiology-pathology-communication-diagnosis-staging-cancer-mammography-case-study

# Recomendaciones del Grupo de Trabajo de Patología Pulmonar de la SEAP

# Estudio intraoperatorio en patología torácica

**Dra. Ana Belén Enguita Valls**
*Servicio de Anatomía Patológica. Hospital 12 de Octubre de Madrid*

El estudio intraoperatorio se realiza en los servicios de Anatomía Patológica desde hace más de 100 años. Es una de las actividades que supone un riesgo legal para el patólogo y además se realiza sobre muestras en fresco, sobre las que se obtienen cortes en congelación, lo que supone un material en el que la interpretación esta dificultada, tanto por los procesos técnicos y los artefactos propios de la técnica, así como por la necesidad de realizar un diagnóstico crucial en el menor tiempo posible. Todos estos matices hacen que sea imprescindible educar para un adecuado manejo macroscópico y una selección indicada de la muestra a incluir. En ocasiones se cuenta con el marcaje de las piezas (sobre todo de nódulos pulmonares), lo que requiere de una educación previa de los cirujanos remitentes y una adecuada interacción y comunicación con ellos, desde el mismo momento en el que deciden enviar una muestra para estudio intraoperatorio, hasta la emisión de un diagnóstico y las decisiones tomadas en base al mismo. Deben conocerse los datos clínicos y radiológicos, existencia de patologías previas, incluso de resultados de PET del paciente, para establecer un correcto diagnóstico intraoperatorio y contar con buena comunicación. El estudio en congelación presenta también limitaciones, identificándose tejidos que resultan menos óptimos para estudio intraoperatorio (grasa, hueso…), debiendo indicarse este dato a los cirujanos.

Existe escasa bibliografía acerca del estudio intraoperatorio y con escasas imágenes.

En el caso del personal técnico, es necesario que se realice formación específica sobre el manejo de este tipo de muestras.

Debemos pedir criterios claros y evidentes de malignidad en el estudio intraoperatorio para establecer este diagnóstico y de no ser así, lo adecuado es indicar la duda a los cirujanos y diferir el diagnóstico al estudio de reevaluación tras fijación en formol e inclusión en parafina del material.

El uso de la citología puede suponer una gran herramienta en los estudios intraoperatorios, ya que no se identifican los artefactos propios del estudio en congelación.

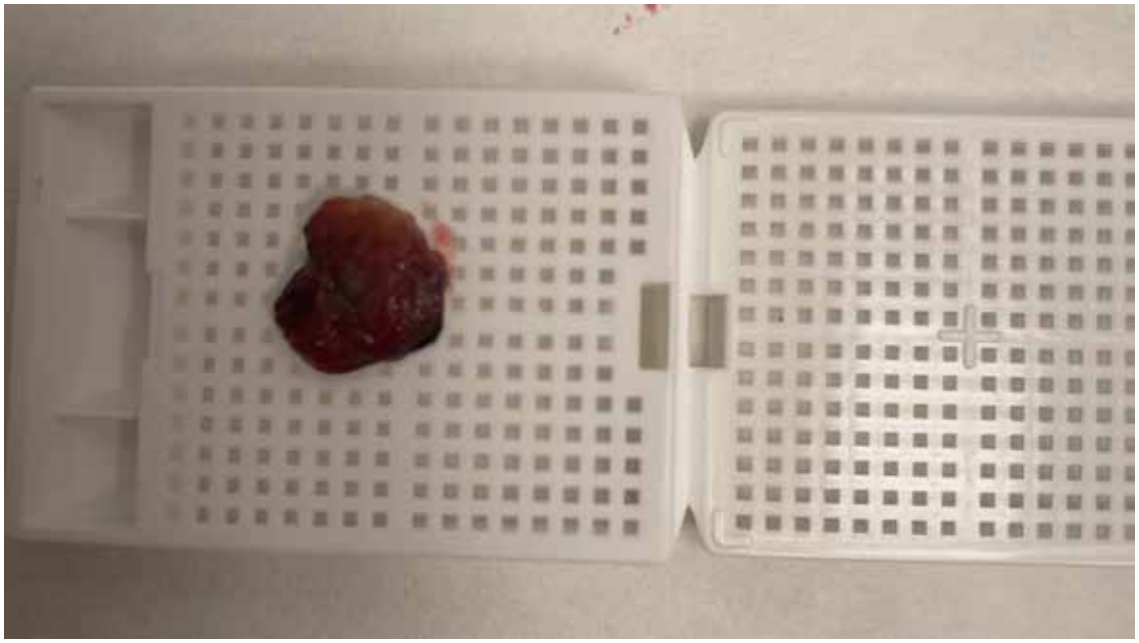
Para estudio intraoperatorio en patología torácica recibimos distintas muestras (resecciones atípicas, segmentectomías, lobectomías, neumonectomías, biopsias con aguja gruesa (BAG), ganglio, fragmentos de pleura, nódulos mediastínicos, pericardio, pulmón…), con sospecha de patologías tanto Infecciosas, como inflamatorias y tumorales, así como patología no tumoral de base.

El manejo de material en fresco hace imprescindible que todas las muestras remitidas se manejen con la prevención adecuada, al tratarse de muestras con elevado riesgo biológico.

**Figura 1.** Criostato para estudio de muestras en congelación (exterior e interior)

**Figura 2.** Pieza de resección pulmonar atípica remitida para estudio intraoperatorio

**Figura 3.** Corte intraoperatorio



Los remitentes de intraoperatorias de patología torácica esperan de nuestro diagnóstico tras el estudio en congelación

- Confirmar que estamos/no en la lesión
- Márgenes quirúrgicos
- Diagnóstico diferencial benigno vs maligno
- SCLC vs NSCLC
- Atipia reactiva vs Carcinoma
- Invasivo/ AMI
- Primario vs metastásico.
- Cicatriz (área atribuible a tratamiento)
- Identificación de metástasis ganglionares
- Identificación de invasión estructuras adyacentes
- Otros tumores no broncogénicos/ estirpes
- Lesiones no tumorales (TBC)

Algunas lesiones suponen un verdadero reto para el diagnóstico intraoperatorio, como por ejemplo la identificación de lesiones GGO VS proliferaciones lepídicas, la identificación de STAS intraoperatorio, la identificación de ganglio centinela y la utilización del método OSNA, la evaluación intraoperatoria de proliferaciones mesoteliales, las lesiones mediastínicas, con todos sus diagnósticos diferenciales (tumores germinales, NUT…), el estudio intraoperatorio de procesos linfoproliferativos y mesenquimales y el desarrollo de estudios inmunohistoquímicos intraoperatorios.

Una de los diagnósticos diferenciales más complejos en el estudio intraoperatorio se plantea entre atipia reactiva VS carcinoma. Para ello, ayuda identificar si existe metaplasia, endotelios con atipia reactiva, fibroblastos proliferativos, presencia de atipia en epitelio bronquial y alveolar, presencia de megacariocitos reactivos, asociación a otros procesos (membrana hialina, panalización, AFOP, NOC, NI, yemas fibroblásticas), cambios atribuibles a obstrucción.

Para informa el estudio intraoperatorio, que se realiza habitualmente de manera telefónica, deben indicarse de manera clara y concisa los siguientes ítems:

- Nombre del paciente
- Indicar cómo se remite
- Saber con quién se habla
- Diagnóstico intraoperatorio
- En caso de DUDA, indicar además los diagnósticos diferenciales.
- Una vez informada, la muestra debe ser procesada para su fijación en formol e inclusión en parafina para reevaluación.
- Debe emitirse un informe escrito.
- Los cortes en congelación obtenidos deben archivarse.

**Ejemplos de estudios intraoperatorios**

**Figura 4.** HS en estudio en congelación.

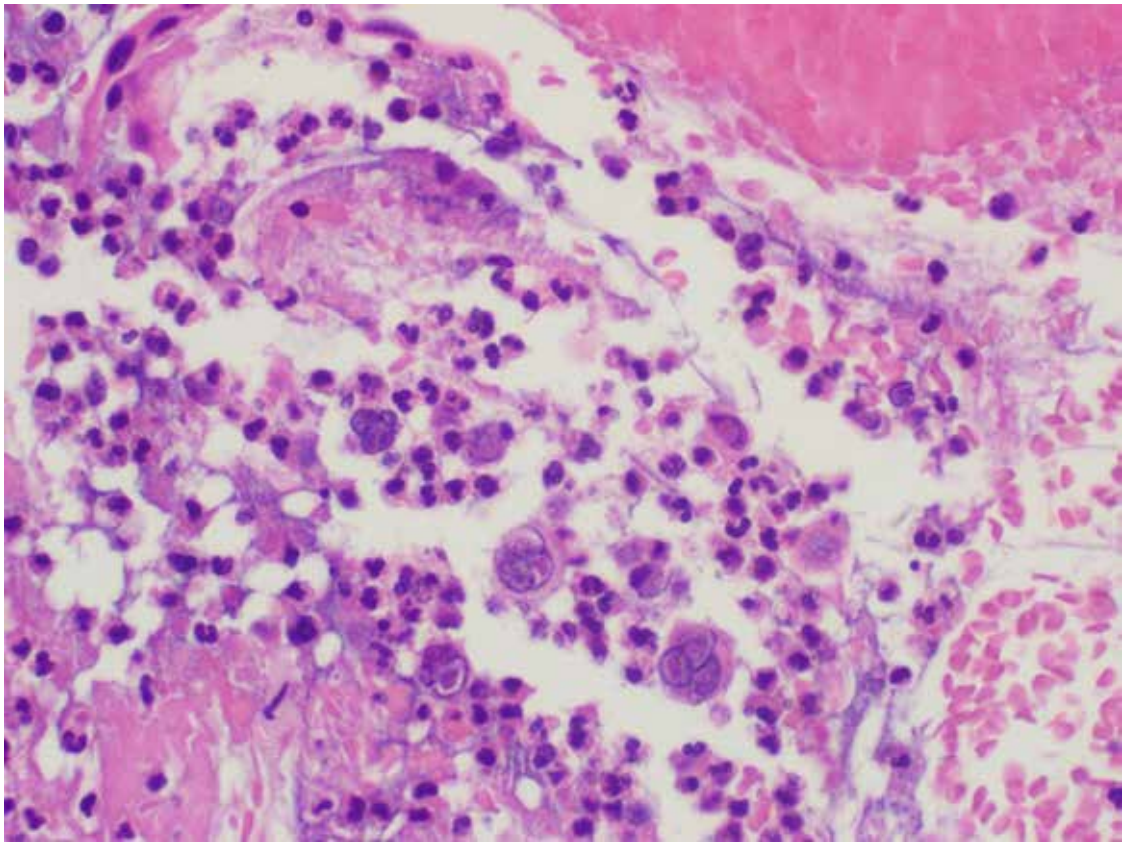


**Figura 5.** Estudio inraoperatorio de timo, con corpúsculos de Hassall, remitido como ganglio linfático.

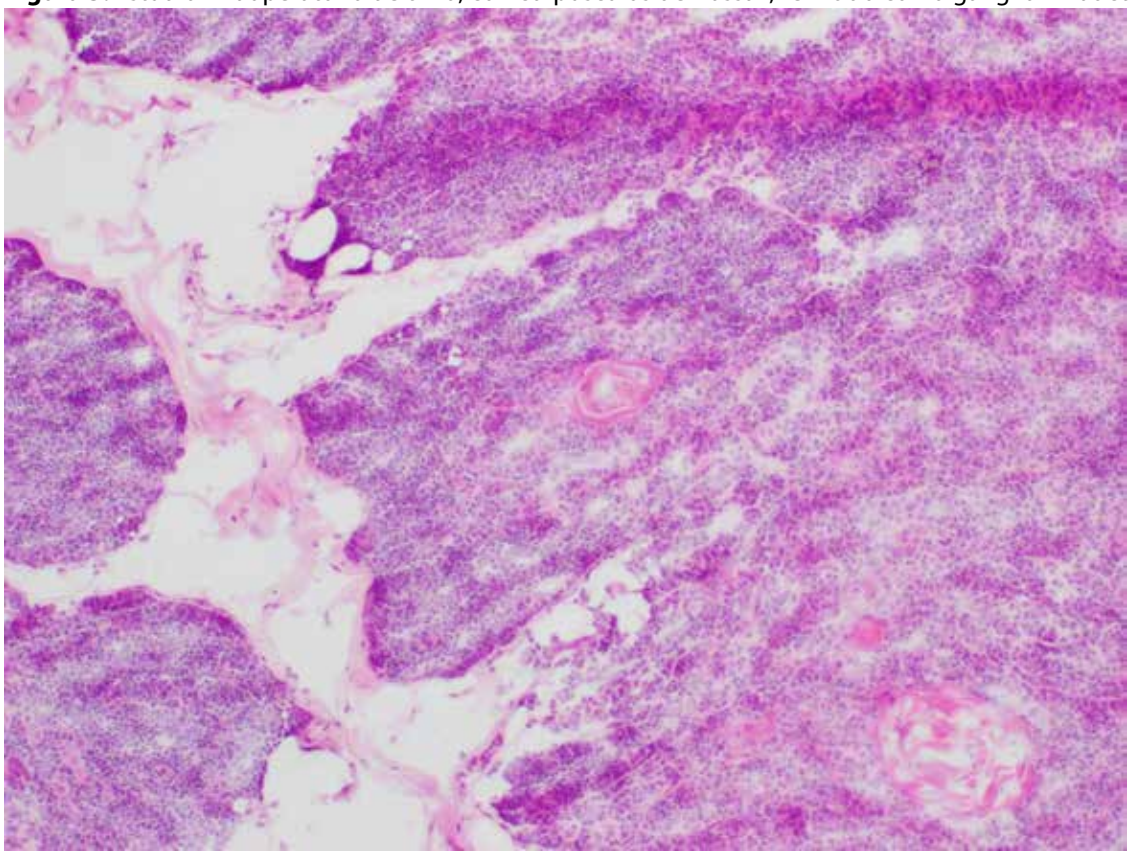


**Figura 6.** Estudio IO de granulomas necrotizantes

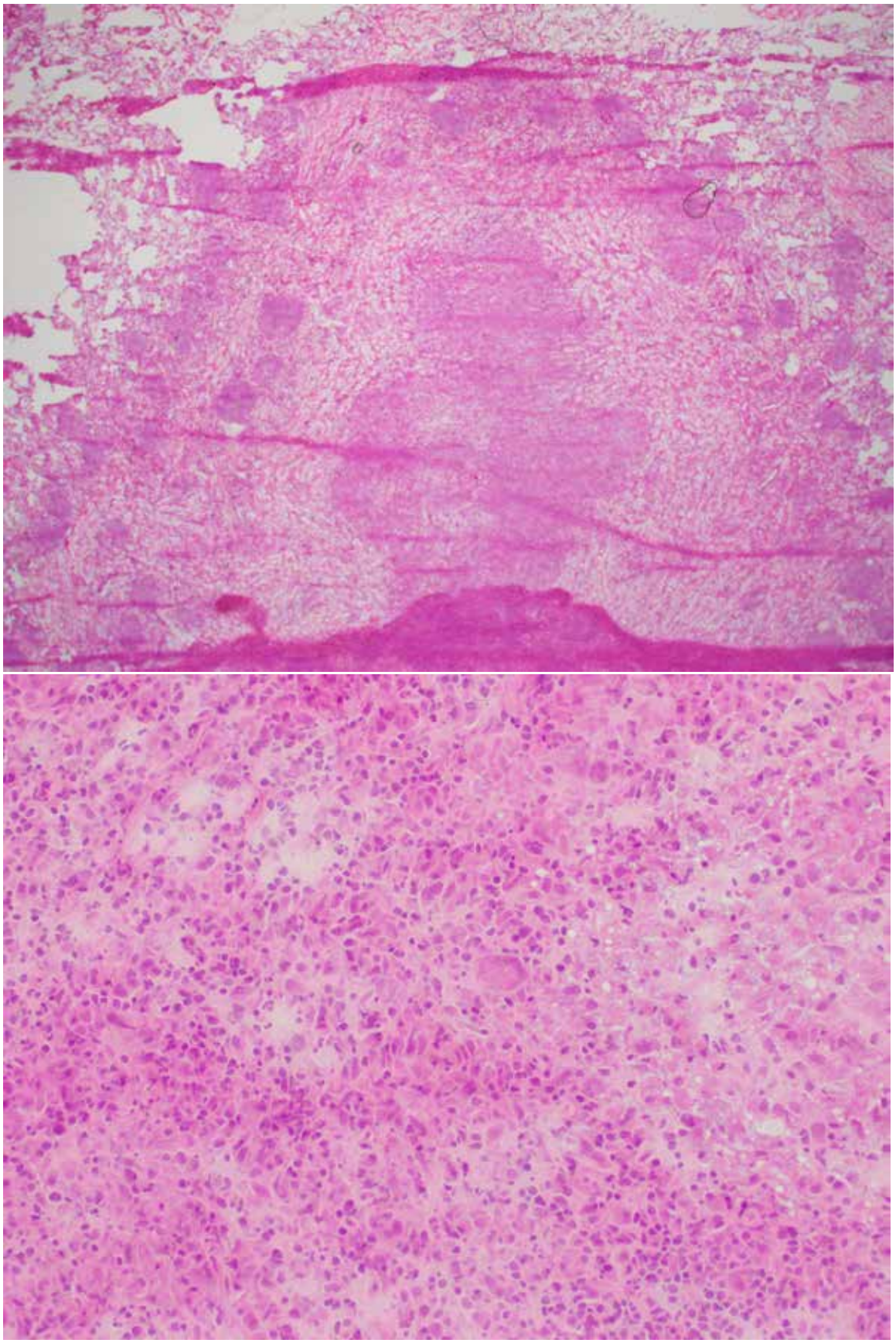


**Figura 7.** Estudio IO de hamartoma pulmonar.

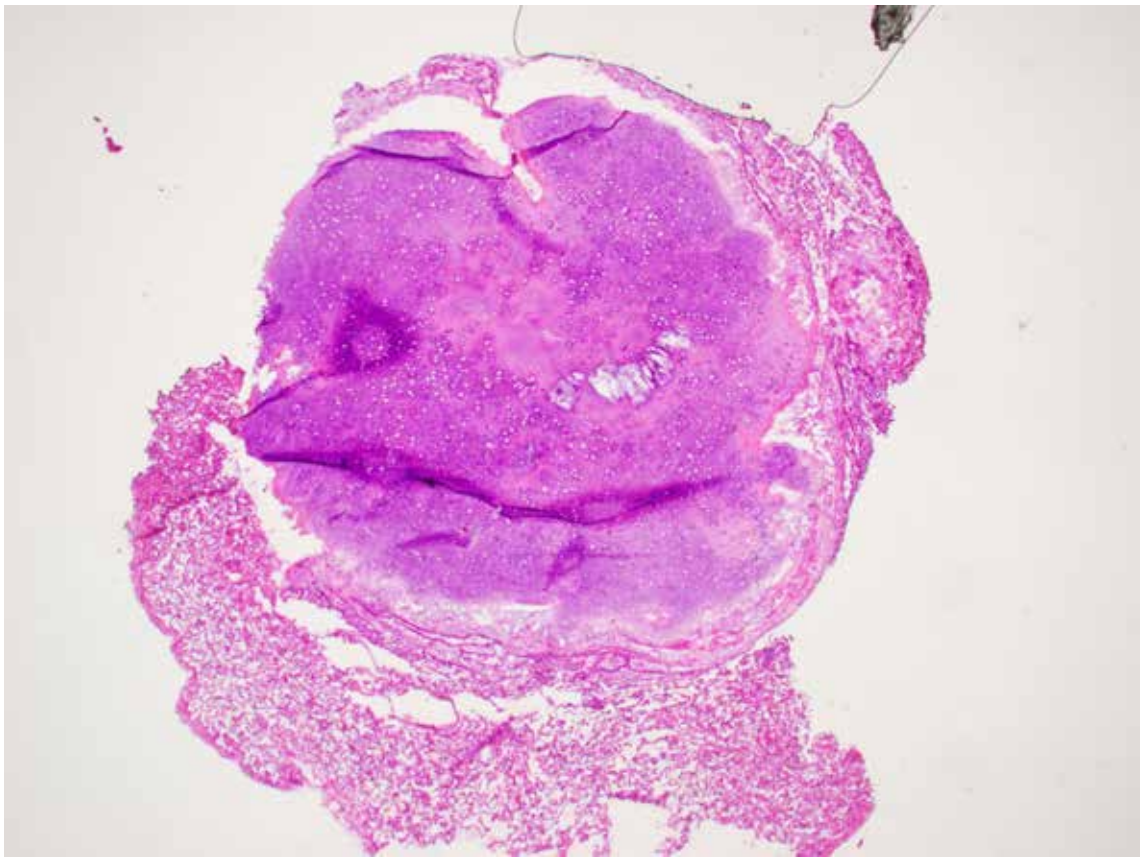


**Figura 8.** Evaluación IO de afectación pleural.

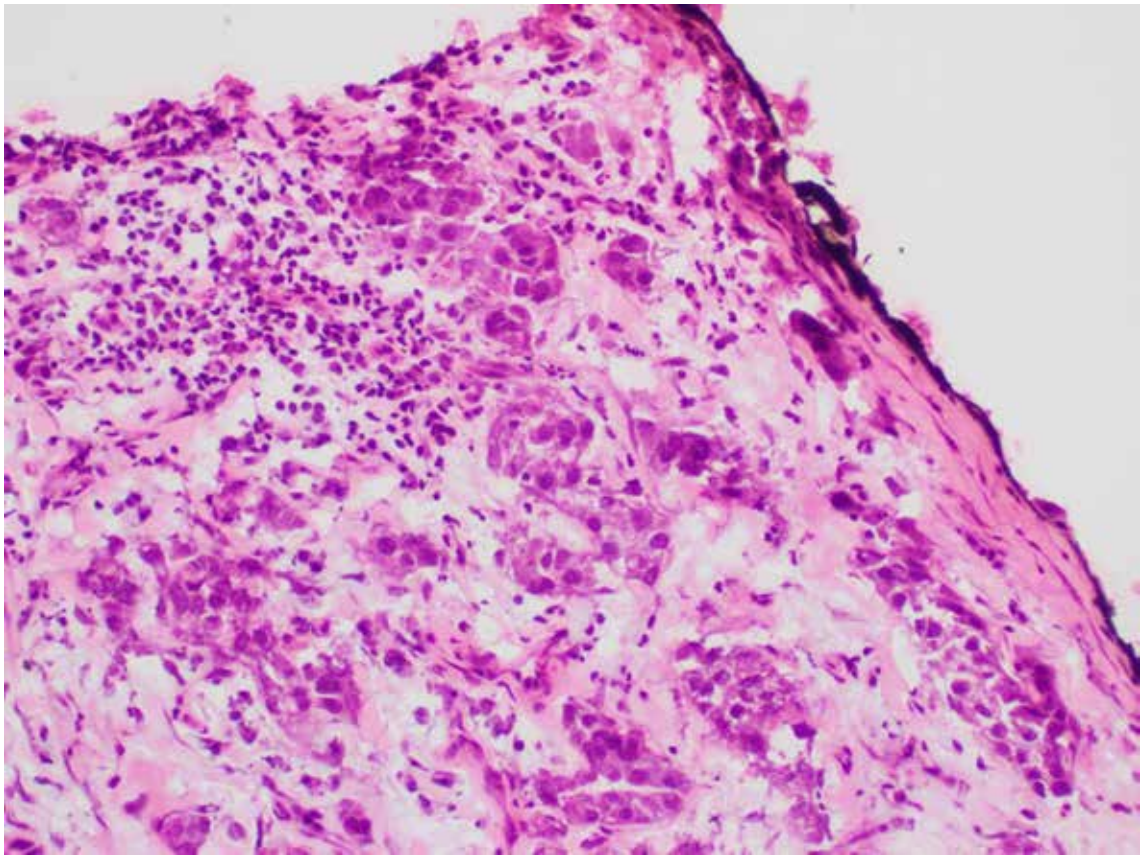


**Figura 9.** Estudio IO de metástasis ganglionar

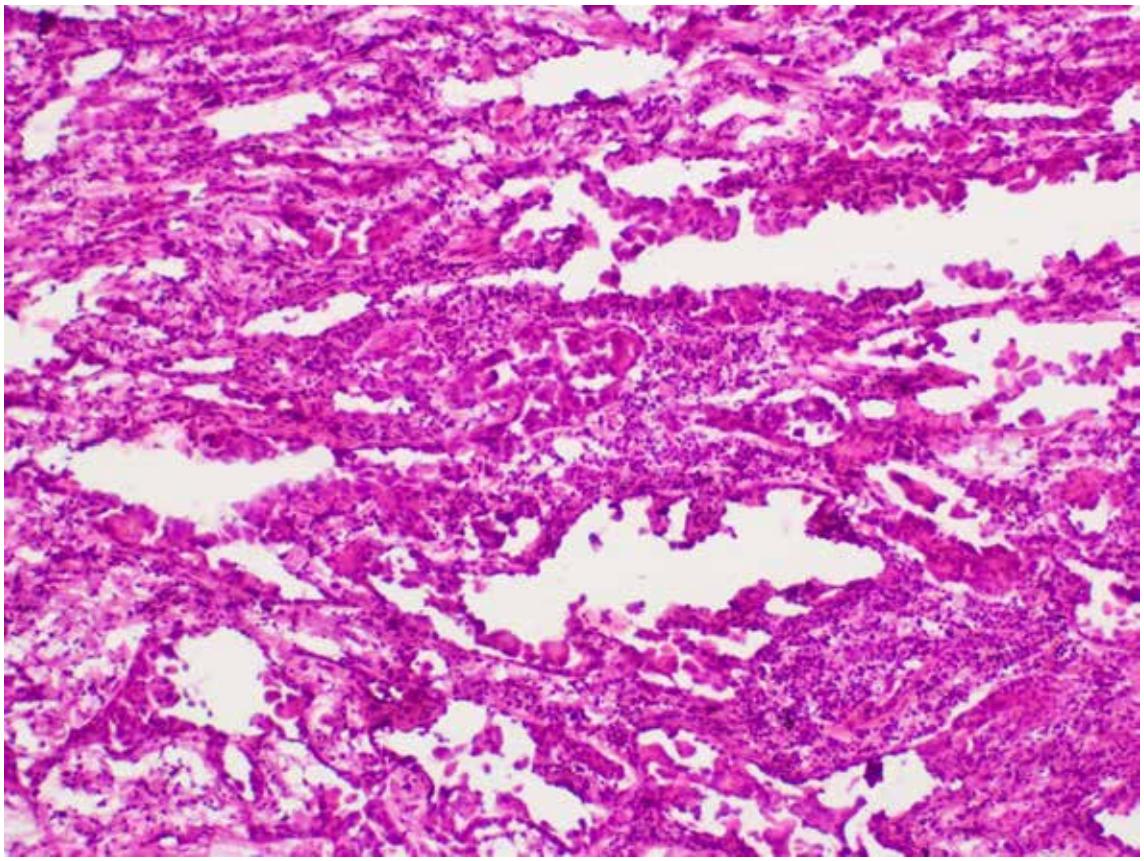


**Figura 10.** Estudio IO de tumor carcinoide.

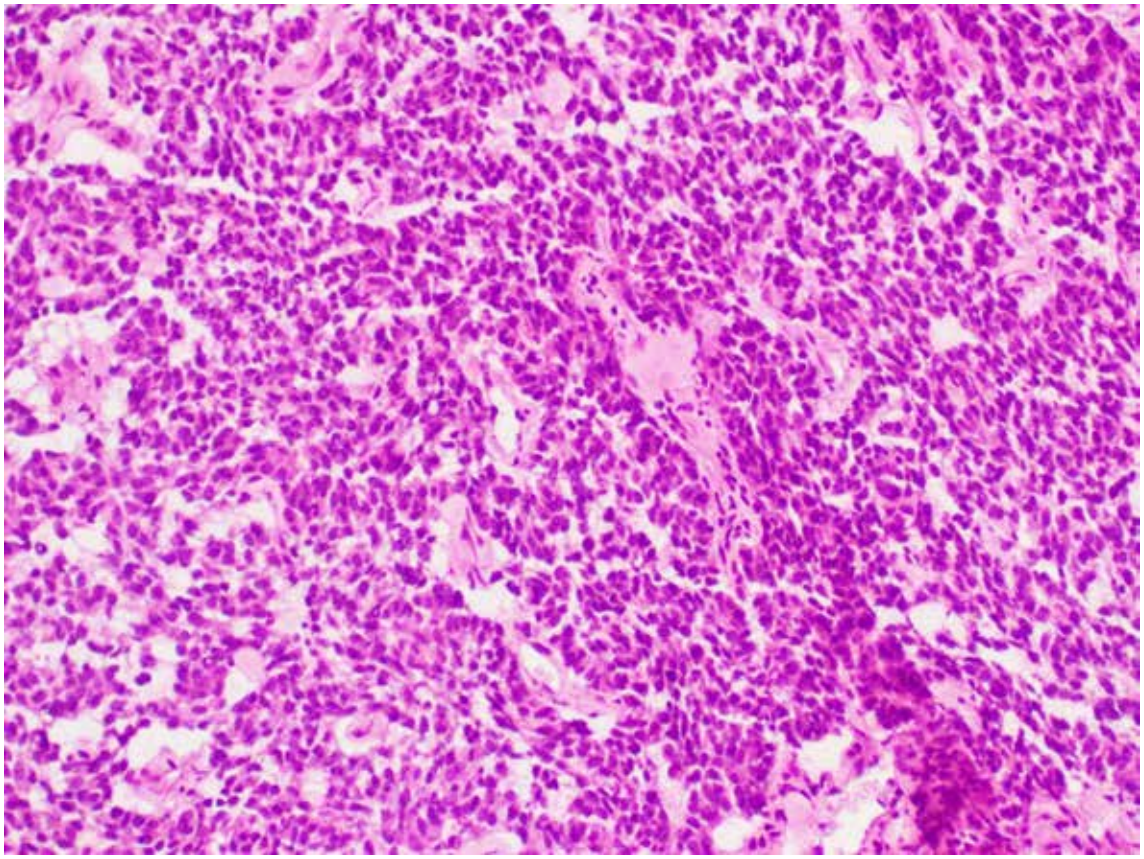


**Figura 11.** Estudio IO de adenocarcinoma patrón GGO.

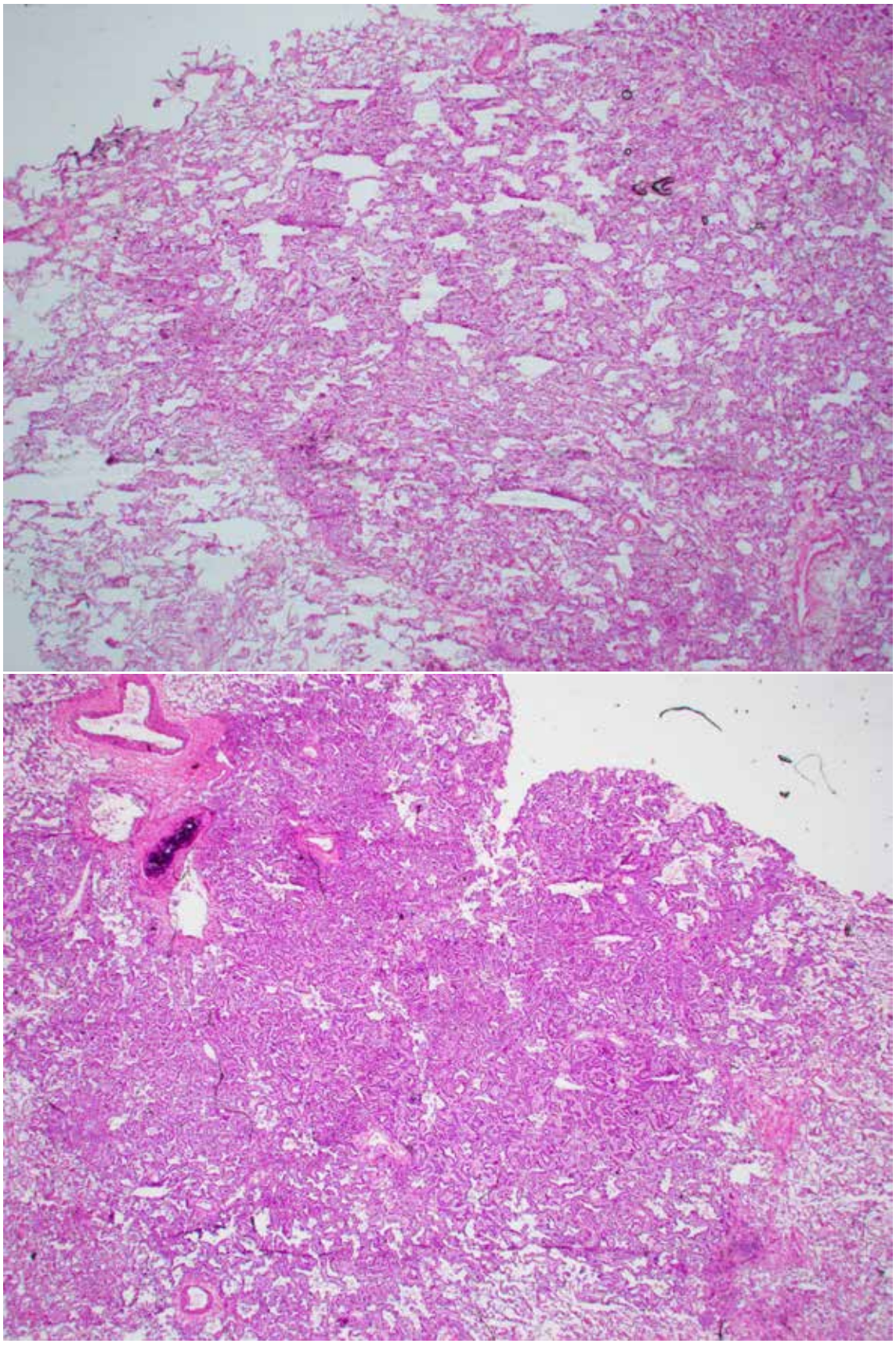


**Figura 12.** Estudio IO de carcinoma escamoso.

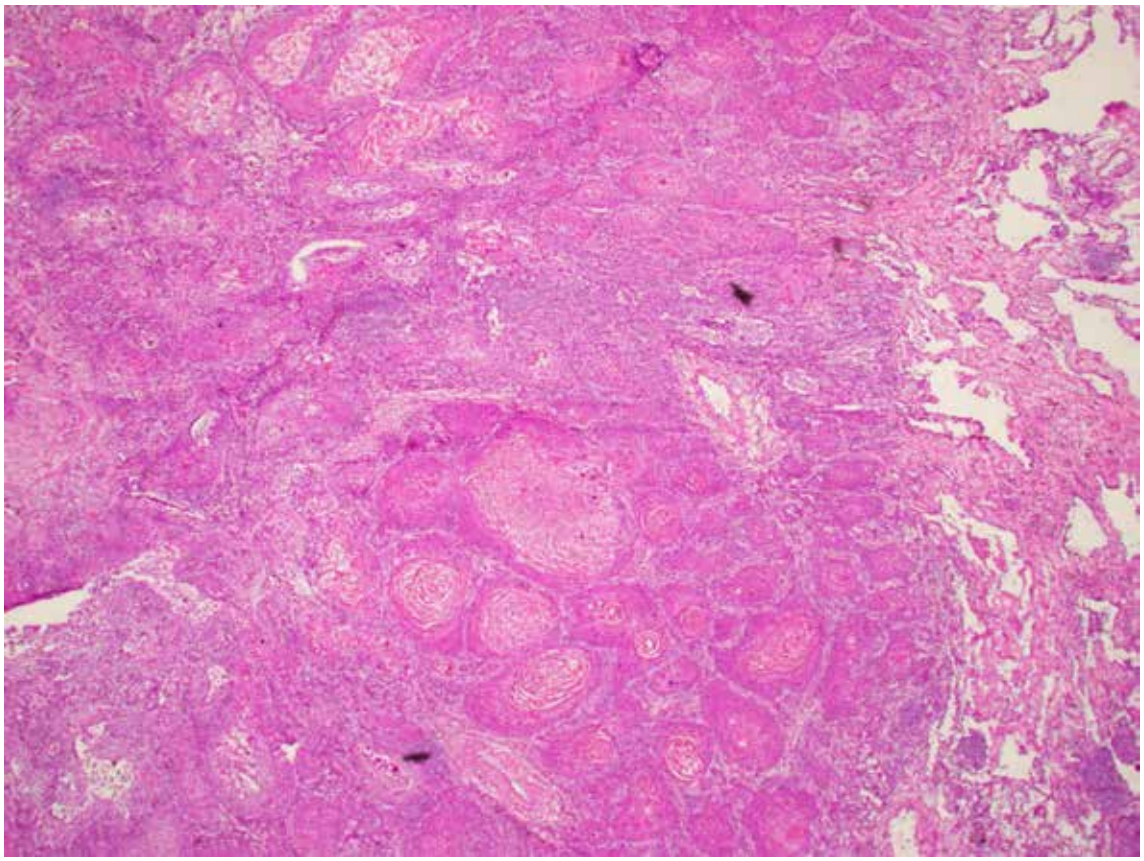
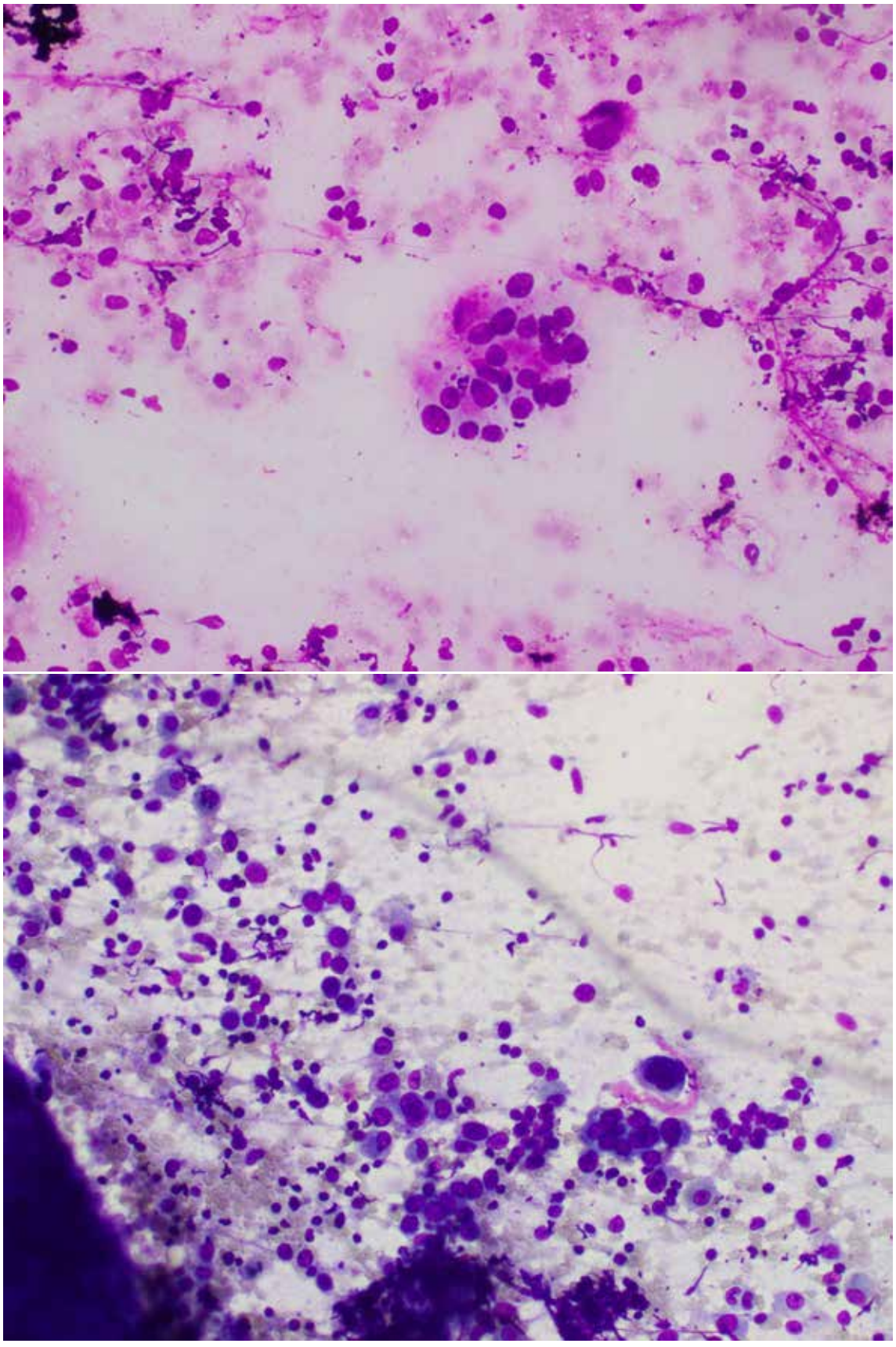


**Figura 13.** Estudio citológico IO.



# Recomendaciones de estudio molecular en patología torácica

**Yolanda Ruano Domínguez**
*Hospital Universitario 12 de Octubre*

## INTRODUCCIÓN

Nos encontramos en la era de la medicina de precisión y los pacientes con cáncer de pulmón no microcítico (CPNM) se benefician del empleo de terapias dirigidas en base a la determinación de biomarcadores accionables. Por tanto, se debe garantizar el acceso al estudio de biomarcadores a todos los pacientes con CPNM (1).

Gracias a los avances tecnológicos, se ha producido un importante cambio de paradigma en el CPNM durante los últimos 15 años. Hemos pasado de estudiar mutaciones en EGFR en estadios avanzados a estudiar diferentes tipos de alteraciones en una larga y creciente lista de genes tanto en estadios iniciales como avanzados. Actualmente existen tratamientos efectivos para mutaciones específicas en EGFR, MET, BRAF, ERBB2 y KRAS, así como para fusiones de ALK, ROS1, *RET* y NTRK1-3. La determinación de estas alteraciones se puede realizar tanto en muestras de tejido como en biopsia líquida, lo que favorece el seguimiento de los pacientes durante el curso clínico de la enfermedad para la detección temprana de posibles resistencias al tratamiento (1, 2). Sin embargo, existen todavía una serie de factores que limitan el acceso a la determinación de biomarcadores en CPNM, tales como el coste económico, la calidad de la muestra, tiempos prolongados de respuesta o la interpretación de los resultados. Y a veces, aunque se identifiquen alteraciones potencialmente accionables, los pacientes no tienen acceso a la correspondiente terapia dirigida según el área geográfica en la que se encuentren (3, 4). Posibles soluciones a algunas de estas limitaciones son el test reflejo, revisión de los casos por comités multidisciplinares, la mejora de las tecnologías para reducir los tiempos de respuesta y la designación de centros de referencia que puedan dar cobertura a otros centros con acceso limitado a la determinación de biomarcadores (3).

A continuación, se discuten algunos aspectos a tener en cuenta para optimizar el estudio molecular en el CPNM.

## CONSIDERACIONES PRE-ANALÍTICAS

La forma en la que las muestras se manipulan en el laboratorio de anatomía patológica es crucial para el éxito o el fracaso en el estudio de los biomarcadores. Las variables pre-analíticas tienen el potencial de impactar directamente en el diagnóstico histológico y en la eficacia de las técnicas moleculares, ya que se puede dañar la integridad de los ácidos nucleicos y las uniones antígeno/anticuerpo, obteniéndose resultados no valorables. Las variables pre-analíticas influyen en las piezas quirúrgicas pero sobre todo impactan en las biopsias pequeñas, donde hay una limitación importante en cuanto a la cantidad de tejido disponible para el diagnóstico histológico y molecular, por

lo que el manejo adecuado del tejido es fundamental para maximizar la cantidad de información que se puede obtener. Las variables pre-analíticas que se deben tener en cuenta son (1, 5):

- **Tiempo de isquemia fría.** El tiempo óptimo debe ser menos de 1 hora.
- **Tipo de fijador.** Preferentemente en formol tamponado al 10 %. Para preservar la integridad de los ácidos nucleicos, se deben evitar fijadores ácidos o mercuriales y agentes decalcificantes. En caso de necesitarse algún agente decalcificante, utilizar preferentemente EDTA. Aunque la fijación en formol y la inclusión en parafina es el método estándar para preservar el tejido, el formol modifica la secuencia del ADN provocando el cambio de nucleótidos en un proceso conocido como deaminación, en el que las citosinas (C) cambian por timinas (T) y las guaninas (G) por adeninas (A), lo que puede implicar la detección de potenciales falsos positivos.
- **Tiempo de fijación.** Se recomienda de 6 a 48 horas en función del tamaño de la pieza. Tanto el exceso como la falta de fijación comprometen la calidad de los ácidos nucleicos. En las piezas pequeñas se puede producir una sobrefijación del tejido, lo que provoca un entrecruzamiento entre proteínas y ácidos nucleicos que impide el análisis, y en las piezas quirúrgicas la fijación puede ser incompleta debido a que el formol no penetra suficientemente en el tejido con la consiguiente degradación de los ácidos nucleicos. En estos casos se debe inyectar el formol en su interior o cortar la pieza antes de sumergirla en formol para asegurar una fijación adecuada.
- **Selección del tejido tumoral.** Para la realización de técnicas moleculares, se recomienda seleccionar un área tumoral igual o superior a 25 $mm^2$ con al menos un 20 % de células tumorales. Para ello, se recomienda realizar una hematoxilina-eosina reciente de la muestra que se va a analizar. En el caso de las piezas grandes, donde el contenido en estroma y células inflamatorias puede ser potencialmente superior, se recomienda realizar macrodisección con el fin de enriquecer la cantidad y pureza del tumor, lo que asegura una adecuada sensibilidad de las técnicas moleculares. En el caso de las biopsias pequeñas, la realización de macrodisección no suele ser necesaria, ya que el contenido en estroma y células inflamatorias suele ser menor.
- **Corte del tejido.** Los bloques de parafina deben cortarse el menor número de veces posible priorizando el estudio de biomarcadores. En el caso de las biopsias pequeñas, se recomienda separar los cilindros en bloques distintos y optimizar el corte de los bloques haciendo un uso racional de la muestra al diagnóstico para preservar el tejido para los estudios moleculares. Además, se debe tomar una serie de precauciones para evitar posibles contaminaciones cruzadas durante el corte del tejido en el microtomo como, por ejemplo, tener un micrótomo sólo para técnias moleculares y utilizar una cuchilla nueva para el corte de cada muestra.

El material citológico también es adecuado para el estudio de biomarcadores siempre y cuando contenga una cantidad suficiente de células tumorales. Si las muestras citológicas se procesan de manera adecuada, pueden ser incluso de mejor calidad que las muestras de tejido prafinado. En general, se suelen preparar bloques celulares pero con los extendidos celulares, improntas y citologías líquidas se suelen obtener también muy buenos resultados (1, 5, 6).

## TIPOS DE ALTERACIONES CLÍNICAMENTE RELEVANTES

En la práctica clínica se conocen cinco tipos de alteraciones genéticas y proteicas relevantes en CPNM (1):

**Variantes de nucleótido único o *single nucleotide variant* (SNV).** Un nucleótido es reemplazado por otro cuando se compara con la secuencia de referencia. El cambio de nucleótido puede ser:

- Patogénico. Cambios de nucleótido que provocan un cambio de aminoácido en la secuencia predictiva de la proteína y pueden ser de dos tipos: Mutaciones *missense*, lo que resulta en una ganancia de función en genes oncogénicos (Por ejemplo: *EGFR* L858R, *KRAS* G12C o *BRAF* V600E) o pérdida de función en genes supresores de tumores como *TP53* o *RB1*; y mutaciones

*nonsense*, en las que el cambio de nucleótido provoca un codon de parada a nivel genómico (TAA, TAG y TGA) y la proteína no se traduce o se traduce de forma incompleta.
- Sinónimo. Cambios de nucleótido que no provocan un cambio de aminoácido en la secuencia predictiva de la proteína.
- Benigno: Cambios de nucleótido que provocan un cambio de aminoácido en la secuencia predictiva de la proteína, pero la proteína sigue siendo funcionalmente normal.

**Inserciones y deleciones (INDELs).** Inserción o deleción de uno o más nucleótidos que alteran la secuencia aminoacídica provocando una alteración en el marco de lectura de dicha proteína. Pueden ser de dos tipos:

- *Frameshift*. Se insertan o delecionan tripletes de nucleótidos que no alteran el orden de lectura en el resto de tripletes desde la inserción o deleción. Es más frecuente en oncogenes como *EGFR* o *HER2*.
- *Nonframeshift*. Se produce un cambio en el orden de lectura de los tripletes de nucleótidos desde el punto de insersión o deleción lo que puede generar un codón de parada. Es más frecuente en genes supresores de tumores como *TP53*, *APC* y *RB1*.

**Variaciones en el número de copias de los genes o *copy number variations* (CNVs).** Amplificaciones y ganancias por el aumento en el número de copias de un gen (suelen afectar a oncogenes), y pérdidas genéticas por la disminución en el número de copias de un gen (suelen afectar a genes supresores de tumores).

**Reordenamientos genéticos o translocaciones.** Un segmento cromosómico se rompe y se fusiona con otro segmento cromosómico en una localización diferente dentro del mismo cromosoma o en otro cromosoma distinto. Los reordenamientos genéticos pueden dar lugar a proteínas de fusión oncogénicas como por ejemplo *EML4*::*ALK*, *CD74*::*ROS1* y *KIF5B*::*RET*.

**Niveles de expresión proteica.** Los niveles de expresión proteica anormalmente elevados pueden ser patogénicos y pueden estar relacionados directamente con alteraciones genéticas, como las amplificaciones o reordenamientos genéticos, aunque no siempre son consecuencia directa de una alteración genética.

Existen varias técnicas disponibles en el mercado para poder detectar las alteraciones genéticas descritas, y cada una de ellas presenta una serie de ventajas e inconvenientes que debemos conocer para seleccionar la mejor estrategia en cada caso. Algunos de los factores a tener en cuenta son el tipo y cantidad de muestra de partida, el tipo de alteraciones que detecta, el coste y los tiempos de respuesta (1).

**Tabla 1.** Alteraciones clínicamente relevantes en CPNM.

| Alteraciones genéticas | Biomarcadores | Métodos de detección más utilizados |
|---|---|---|
| **SNVs e INDELs** | *EGFR*, *BRAF*, *KRAS*, *HER2*, *STK11*, *KEAP1*, *TMB* | PCR a tiempo real, PCR digital, NGS |
| **CNVs** | *MET*, *HER2*, *CDKN2A* | FISH, CISH, NGS |
| **Reordenamientos o fusiones** | *ALK*, *ROS1*, *RET*, *MET*, *NTRK* | FISH, Inmunohistoquímica, RT-PCR, NGS |
| **Niveles de expresión proteica** | *ALK*, *NTRK*, *PDL1*, *HER2*, *MSI* | Inmunohistoquímica |

Abreviaturas: SNV, *Single Nucleotide Variant*; INDEL, *Inserción/deleción*; TMB, *Tumor Mutation Burden*; PCR, *Polymerase Chain Reaction*; NGS, *Next Generation Sequencing*; FISH, *Fluorescent in situ Hybridization*; CISH, *Chromogenic in situ Hybridization*; RT-PCR, *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction*. Adaptada de *IASLC Atlas of Molecular Testing for Targeted Therapy in Lung Cancer*, 2023 (1).

## TÉCNICAS DE TIPO SINGLE GENE TESTING

Considerando que la mayoría de las mutaciones oncogénicas son mutuamente excluyentes, el abordaje que se ha utilizado durante muchos años para el estudio de biomarcadores en el CPNM es el *single gene testing* (SGT), en el que se estudian las alteraciones gen a gen de forma independiente y secuencial. A continuación, se detallan algunas de las técnicas convencionales más frecuentemente utilizadas:

### PCR, RT-PCR y PCR digital

El contenido de ADN en las biopsias de tejido es muy escaso por lo que antes de realizar cualquier análisis es necesario amplificar el ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa o PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Se trata de una técnica utilizada para detectar SNVs e INDELs.

La PCR a tiempo real es la PCR más frecuentemente utilizada para la detección de mutaciones oncogénicas. Esta técnica detecta específicamente el alelo mutado a través de sondas y mediante el incremento de los niveles de fluorescencia generados por el alelo mutado. Algunas aproximaciones de PCR a tiempo real no discriminan entre variantes, y los resultados se muestran como mutación detectada o no detectada sin especificar la variante (7). Ejemplos de plataformas comerciales disponibles: Cobas (Roche Diagnostics), Therascreen (Qiagen) o Idylla (Biocartis), siendo esta última la más rápida y sencilla de utilizar.

La PCR de transcripción inversa o RT-PCR (*Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction*) se utiliza para la detección de genes de fusión a partir de ARN mediante la síntesis de cDNA o ADN copia. El cDNA es más estable que el ARN y es más sensible que el ADN por no presentar secuencias intrónicas. Se utilizan kits de PCR multiplex con numerosos cebadores o *primers* para detectar los compañeros o *partners* de fusión más frecuentes (8). Ejemplos de plataformas basadas en esta técnica son AmoyDx (Singapore) o los cartuchos de Idylla (Biocartis).

La PCR digital se utiliza para la detección de SNVs, INDELs y CNVs. En la PCR digital la muestra se compartimentaliza en micro-reactores donde cada molécula de ADN se amplifica en un compartimento distinto. La presencia de amplificación en un compartimento indica presencia de alteración, y el número de copias de dicha alteración se estima mediante una distribución de Poisson. Se trata de una técnica altamente sensible que permite realizar una cuantificación precisa del alelo mutado, por lo que es una de las técnicas de elección para el estudio en biopsia líquida (9). Ejemplos de plataformas disponibles: Droplet Digital PCR (Biorad) y Absolute Q (ThermoFisher).

### Hibridación *in situ*

Se trata de una técnica en la que se utiliza una sonda de ADN o ARN que hibrida por complementariedad de bases con un gen o localización cromosómica específica. Dependiendo de cómo se encuentre marcada la sonda, se puede realizar Hibrización *in situ* Cromogénica o CISH (*Chromogenic in situ Hybridization*) basada en reacciones con peroxidasa o fosfatasa alcalina que se pueden evaluar en microscopio de campo claro, e Hibridación *in situ* Fluorescente o FISH (*Fluorescence in situ Hybridization*) con marcaje fluorescente que debe evaluarse en campo oscuro con microscopio

de fluorescencia. Existen diferentes tipos de sondas en función de la alteración cromosómica que se quiera detectar:

- Sondas para la detección de amplificaciones, ganancias y pérdidas o deleciones (Figura 1).
- Sondas de fusión para la detección de dos genes fusionados que normalmente no están juntos y que se han reordenado para dar lugar a una proteína de fusión (Figura 2).
- Sondas de rotura o *break apart* que consisten en dos sondas marcadas en diferente color que hibridan en el mismo gen flanqueando la región de translocación o ruptura del gen (Figura 2).

**Figura 1.** Hibridación in situ Fluorescente utilizando sondas para variaciones en el número de copias. Señal verde: Sonda control centromérica o locus específico; señal roja: Sonda gen o región a estudio https://www.cytocell.com/ marzo 2025.

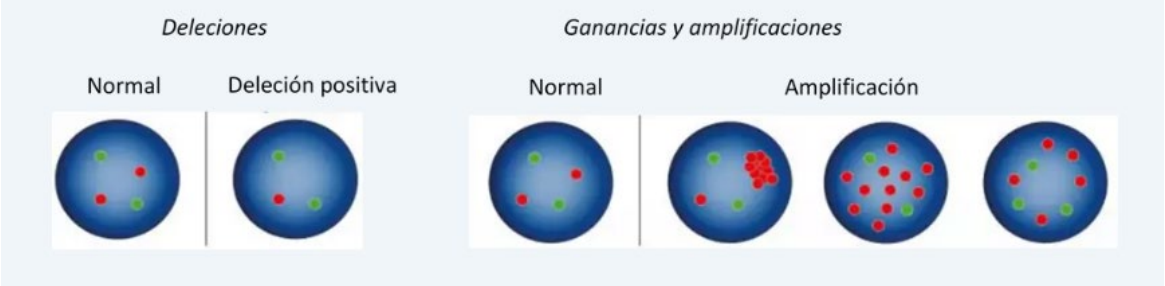
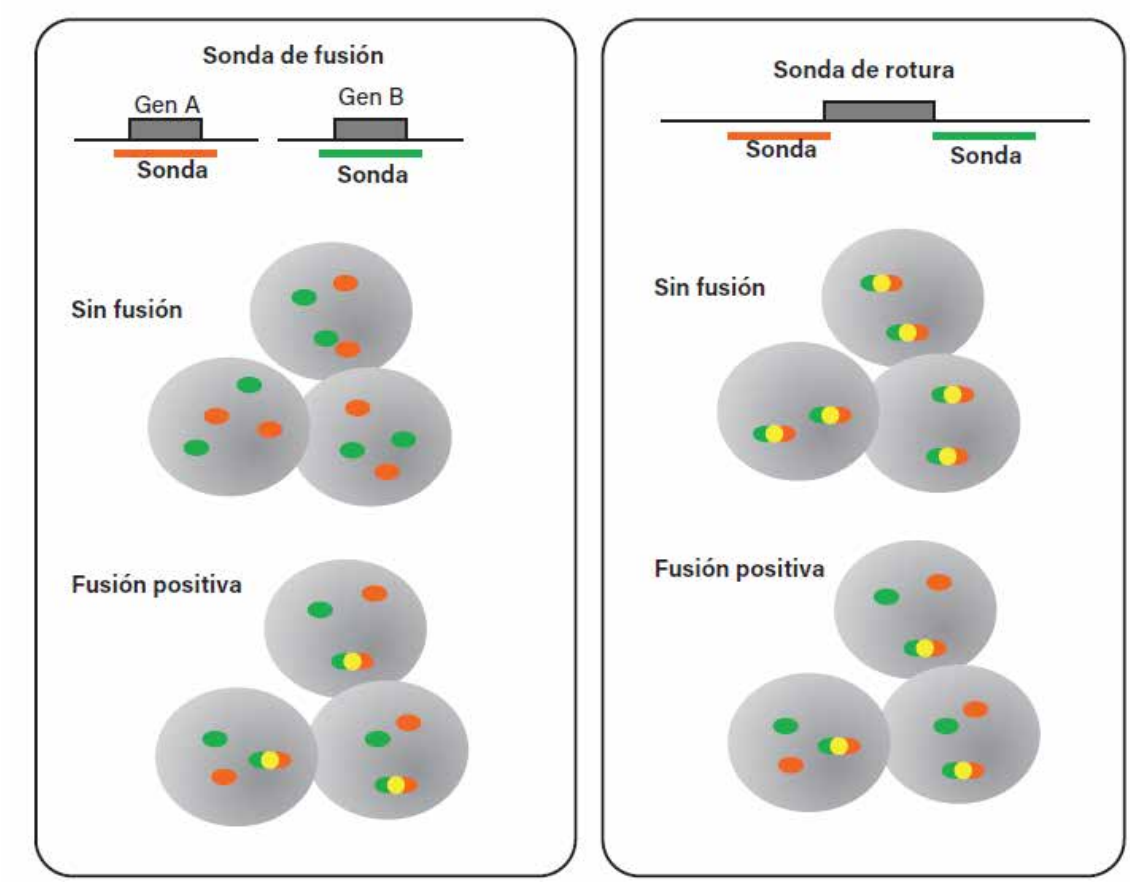



**Figura 2.** Hibridación in situ Fluorescente utilizando sondas de fusión y de rotura o break apart (1).



### Inmunohistoquímica

Se trata de una herramienta diagnóstica muy importante, ya que es una técnica muy robusta para la detección de la expresión de proteínas relevantes para la clasificación patológica de los tumores, así como en la identificación de alteraciones moleculares accionables. El procedimiento básico incluye una recuperación antigénica, incubación con anticuerpo primario, lavados para eliminar el anticuerpo no unido, incubación con anticuerpo secundario marcado para que se una a la cadena pesada del anticuerpo primario, lavado para eliminar los anticuerpos no unidos y visualización con un revelador de señal en un microscopio de campo claro. Existen anticuerpos que pueden detectar mutaciones concretas con una alta sensibilidad, como es el caso de la mutación V600E de *BRAF*. Sin embargo, un resultado negativo no descarta la presencia de otras mutaciones accionables en el mismo gen. En estos casos, se necesita la confirmación molecular mediante otras técnicas moleculares. También existen anticuerpos para la detección o cribado de reordenamientos genéticos como en el caso de ALK, ROS1 y NTRK, necesitándose métodos ortogonales de confirmación para el caso de ROS1 y NTRK (10).

## TÉCNICA DE SECUENCIACIÓN MASIVA

La técnica de secuenciación masiva o NGS (*Next Generation Sequencing*) permite estudiar un amplio número de genes y alteraciones con una alta sensibilidad y especificidad partiendo de cantidades pequeñas de muestra. La NGS es una técnica capaz de especificar las variantes detectadas así como la fracción alélica de dichas variantes. Aspectos a tener en cuenta:

### Genoma completo, exomas o paneles dirigidos

La secuenciación de genoma completo y exoma se suele realizar en series amplias de tumores con el fin de caracterizar y descubrir nuevos genes *driver* y biomarcadores de la enfermedad, mientras que la secuenciación dirigida mediante la utilización de paneles de genes es más frecuente en la práctica clínica. Los paneles dirigidos están diseñados para detectar la mayoría de las alteraciones de interés en un número variable de genes (desde a penas 50 genes hasta 500-600 genes) relevantes para el diagnóstico, pronóstico o tratamiento de los pacientes con cáncer. Los paneles dirigidos más pequeños suelen ser paneles de tipo *hospot* que sólo cubren las regiones más frecuentemente mutadas de los genes que incluye el panel. Se pueden utilizar paneles de genes para la secuenciación de ADN, ARN o ambos. Los paneles de ADN están diseñados para detectar SNVs, INDELs y CNVs, mientras que los paneles de ARN están diseñados para detectar reordenamientos o fusiones génicas. También existen paneles basados en ADN que secuencian los puntos de rotura o translocación a nivel genómico y pueden ser muy variados, mientras que si se parte de ARN se detecta directamente la fusión después del proceso de transcripción. La mejor opción en estos casos es utilizar paneles híbridos de ADN y ARN, pero si se utiliza un panel de ADN para la detección de reordenamientos o fusiones y el resultado es negativo, se recomienda realizar el estudio con un panel de ARN (1, 11).

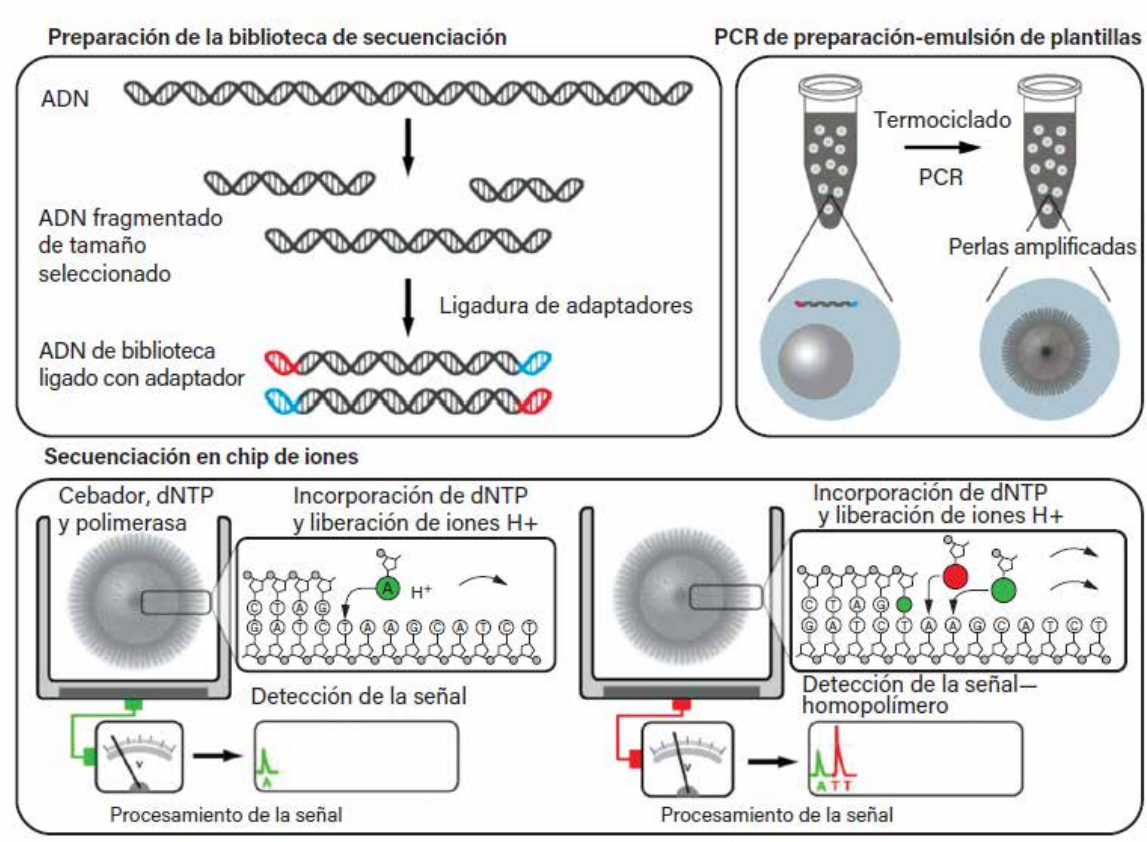
### Química de secuenciación

Existen dos tipos de plataformas en función de la química de secuenciación:

- Generación de amplicones y secuenciación por semiconductores (Ion Torrent de ThermoFisher). Se generan librerías realizando una PCR multiplex con millones de cebadores para amplificar por PCR las regiones génicas de interés. A los fragmentos amplificados para cada paciente se le añade un código de barras o identificador único que permite multiplexar pacientes, así como adaptadores para la unión de cada fragmento generado a una bola magnética donde tendrá lugar una amplificación clonal mediante PCR de emulsión en un proceso conocido como enriquecimiento. Estas bolas magnéticas se cargan en un chip con millones de pocillos donde tendrá lugar la secuenciación de los fragmentos de librería generados. A partir de cebadores complementarios al adaptador del extremo libre de cada

fragmento en la bola magnética, se realizan flujos de dinucleótidos trifosfato (dNTPs) en los que se liberan nucleótido adenina (A), guanina (G), citosina (C) y timina (T) de manera independiente. Si el nucleótido correspondiente a ese flujo es añadido a la cadena de secuenciación, se libera un protón (H+). La liberación de protones en el pocillo causa un cambio de pH que se traduce en un cambio de voltaje y genera la señal cruda de secuenciación (1, 12).

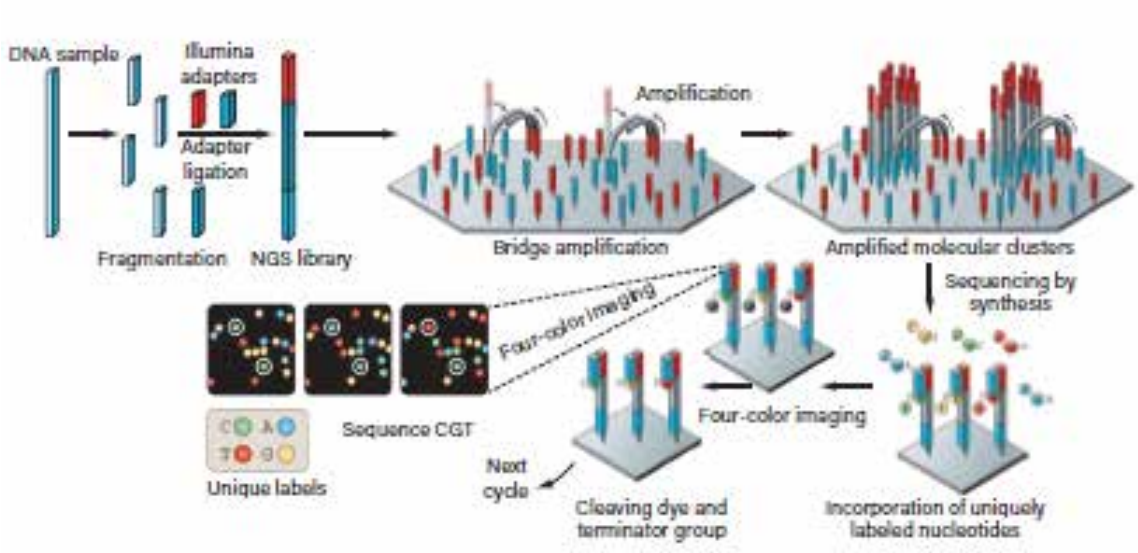
**Figura 3.** Tecnología de secuenciación Ion Torrent (ThermoFisher) (Adaptada de Anandhakumar C y col., 2015) (12).


Preparación de la biblioteca de secuenciación
ADN
ADN fragmentado de tamaño seleccionado
Ligadura de adaptadores
ADN de biblioteca ligado con adaptador
PCR de preparación-emulsión de plantillas
Termociclado
PCR
Perlas amplificadas
Secuenciación en chip de iones
Cebador, dNTP y polimerasa
Incorporación de dNTP y liberación de iones H+
Detección de la señal
Procesamiento de la señal
Incorporación de dNTP y liberación de iones H+
Detección de la señal—homopolímero
Procesamiento de la señal

- Captura de híbridos y secuenciación por síntesis (Illumina). Se fragmenta el ADN en segmentos cortos de unas 300 pb, se añaden adaptadores en los extremos 3´y 5´ para la unión del cebador de secuenciación, código de barras para la identificación única del paciente y una región complementaria a la celda de secuenciación (*flow cell*). La celda de secuenciación es un portaobjetos con carriles, en cada carril hay millones de pocillos, y cada pocillo tiene 2 tipos de oligos pegados en el fondo. En cada pocillo sólo entrará 1 hebra de todas las generadas para cada paciente y se unirá por complementariedad de bases con uno de los oligos presentes en el fondo del pocillo. La DNA polimerasa copia la hebra de la muestra liberándose posteriormente la hebra original o molde. La hebra que queda se doblará y el extremo contrario hibridará por complementariedad de bases con el otro oligo presente en el fondo del pocillo. La DNA polimerasa volverá a copiar la hebra y se formará una molécula bicatenaria en forma de puente (amplificación por puente). Esta estructura bicatenaria se desnaturaliza separándose las dos hebras para obtener una hebra *forward* y otra *reverse*. Se corta la herbra *reverse* y se secuencia la hebra *forward*. Este proceso se produce muchas veces mediante amplificación clonal generándose un *cluster* o agrupación de hebras amplificadas. Una vez que tenemos el *cluster*, los extremos 3´se protegerán para evitar una hibridación no deseada y para que no se plieguen de nuevo. Un cebador hibridará en nuestra cadena y se bañará el *cluster*

con una solución de nucleótidos que contiene una adenina (A), una citosina (C), una timina (T) y una guanina (G) marcados con un fluoróforo distinto cada uno. Tras la adición de alguno de estos nucleótidos a la cadena se emitirá fluorescencia. Luego se lava y se vuelve a bañar con otra solución con los 4 nucleótidos, se añade otro y emite fluorescencia. Cada vez que se baña el *cluster* con los nucleótidos y se une alguno se considera un ciclo de secuenciación. El número de ciclos va a depender de la longitud de la cadena. Tras terminar el proceso de secuenciación se desnaturaliza y se retira la hebra generada. Luego se incorpora otro cebador para poder leer la secuencia índice. Tras terminar la secuenciación del índice se lava el fragmento generado. Se desbloquea el extremo 3´y se permite que la hebra se vuelva a flexionar para que hibride el extremo con el oligo complementario de la base del pocillo y se lee el segundo índice del otro extremo de la hebra. Se vuelve a producir una amplificación por puente y se obtiene una hebra *forward* y otra *reverse*, en este caso se corta la *forward* y se secuencia la *reverse* como hemos explicado anteriormente (1, 12).

**Figura 4.** Tecnología de secuenciación Illumina (Adaptada de Anandhakumar C y col., 2015)(12).




**¿Generación de amplicones o captura de híbridos?**

El enriquecimiento mediante la generación de amplicones permite utilizar menos cantidad de muestra de partida que la captura de híbridos, tiene un menor tiempo de respuesta y se puede automatizar de principio a fin. Sin embargo, en la secuenciación por amplicones normalmente se utilizan paneles de genes de tipo *hotspot*, por lo que el número de genes o regiones a secuenciar es limitado. Por el contrario, con la captura de híbridos no hay un límite de genes o regiones para secuenciar e incluso es más sensible para detectar fusiones o reordenamientos genéticos *de novo*, lo que puede ser útil para detectar alteraciones potencialmente accionables que permitan incluir pacientes en ensayos clínicos.

## SGT O NGS ¿CUÁL ES LA MEJOR ESTRATEGIA MOLECULAR?

La elección de uno u otro abordaje va a depender de la financiación, cantidad de muestra, las plataformas disponibles y la experiencia que se tenga en ellas, la prevalencia de una determinada alteración en la población local, terapias aprobadas y tiempos de respuesta. Actualmente, las guías

clínicas nacionales e internacionales recomiendan realizar NGS frente a SGT. Sin embargo, se sigue considerando que la NGS es una técnica con un alto coste económico y con largos tiempos de respuesta. Cabe destacar, que existen algunos estudios económicos que señalan que la NGS es una técnica más coste-efectiva que el SGT por el alto número de biomarcadores a estudiar y la cantidad limitante de muestra. Y con respecto a los tiempos de respuesta, hoy día existen plataformas que permiten obtener los resultados de NGS en 3 días y de forma totalmente automatizada. Dos limitaciones importantes de la NGS están relacionadas con la baja sensibilidad para detectar fusiones y número de copias de los genes (amplificaciones y deleciones), lo que hace necesario el validar y completar resultados mediante SGT. Por su parte, el SGT (PCR, Inmunohistoquímica y FISH) permite obtener resultados de forma rápida en 24h y partiendo de poca muestra. En este caso, si se sospecha la alteración y el resultado es muy urgente, este abordaje es de gran utilidad. Sin embargo, algunas aproximaciones de tipo SGT no cubren ciertas alteraciones, como por ejemplo la inserción del exón 20 de *EGFR*, lo que puede conducirnos a obtener falsos negativos o resultados no concluyentes que nos empujen a realizar más técnicas con la limitación importante en cuanto a la cantidad de muestra (2, 13, 14).

## TEST REFLEJO

El manejo y tratamiento de los pacientes con CPNM ha cambiado rápidamente en los últimos años. La disponibilidad de inmunoterapia y de diferentes tratamientos dirigidos que mejoran la respuesta y la supervivencia de los pacientes metastasicos, hace que la determinación de biomarcadores sea un requisito indispensable para guiar la primera línea de tratamiento sistémico. La introducción de la terapia dirigida en adyuvancia hace que la determinación de biomarcadores en estadios iniciales también sea importante. La cantidad de biomarcadores y alteraciones que hay que testar es elevada, y los resultados deben estar a tiempo para que el oncólogo pueda elegir y planear el mejor tratamiento para el paciente (15).

Tradicionalmente, la solicitud de biomarcadores la realizaba el oncólogo en base a criterios clínicos después del diagnóstico histológico por parte del patólogo. Este abordaje no facilita la optimización de la muestra y retrasa la obtención de resultados, lo que aumenta el riesgo de deterioro clínico del paciente para poder iniciar tratamiento y se realizan tratamientos subóptimos (16, 17). En el test reflejo, el patólogo es responsable de iniciar la determinación de biomarcadores sin que tenga que haber una petición formal por parte del oncólogo. Este abordaje permite la determinación de biomarcadores tan pronto como el diagnóstico histológico es confirmado. El test reflejo asegura un manejo óptimo de la muestra disponible evitando la realización de técnicas inmunohistoquímicas innecesarias y preservando el tejido para los estudios moleculares. De esta manera, se asegura que todos los pacientes con CPNM tengan realizada la determinación de biomarcadores de forma sistemática y equitativa (15).

Una de las limitaciones del test reflejo es el alto coste, ya que no se estratifican los pacientes en función de las características clínicas por no estar disponibles para los patólogos en el momento de realizar la solicitud del test, lo que aumenta el riesgo de realizar estudios moleculares de manera inapropiada o innecesaria. Sin embargo, este argumento pierde fuerza en el contexto de la terapia adyuvante en estadios iniciales (18). El argumento de testar biomarcadores en estadios iniciales es irrelevante porque la enfermedad avanza y las alteraciones moleculares del tumor cambian modificando la respuesta a los tratamientos, más que ir en contra de los tests reflejos, respalda el argumento de rebiopsiar en la progresión de la enfermedad. Además, el coste de realizar NGS es mucho menor que el coste de los tratamientos incluso si se tuviera que repetir la técnica (15).

Por tanto, en la actualidad se recomienda realizar test reflejo estadio-agnóstico, donde todos los biomarcadores accionables se estudian de forma automática con la solicitud del patólogo y mediante la combinación de NGS e inmunohistoquímica. Este abordaje permite tener un perfil de biomarcadores completo, reduce los tiempos de respuesta y es coste-efectivo frente al empleo de SGT (15).

**BIOPSIA LÍQUIDA**

La biopsia líquida es cualquier fluido biológico donde se puede realizar el estudio de biomarcadores a partir de los ácidos nucleicos circulantes, células tumorales circulantes (CTCs), vesículas extracelulares y factores derivados de plaquetas, entre otros, liberados por el tumor En la práctica clínica, los estudios de biopsia líquida en CPNM se realizan preferentemente en ADN tumoral circulante (ADNtc) obtenido a partir del plasma de muestras de sangre, aunque también se puede utilizar líquido pleural, líquido cefalorraquídeo y líquido ascítico (1, 19, 20).

El ADN libre circulante (ADNlc) representa la suma de fragmentos cortos de ADN procedente de células tumorales y células normales. Su vida media es muy corta y suele encontrarse en concentraciones muy bajas. Por tanto, las consideraciones pre-analíticas se centran en estabilizar el ADNtc y prevenir la contaminación con ADN genómico procedente de células hematopoyéticas en el caso de muestras de sangre, lo que puede hacer indetectable el ADNtc. Para ello, existen tubos comerciales para la recogida de sangre que contienen un conservante que estabiliza el ADNtc hasta la extracción del plasma en un máximo de 72h. En caso de utilizar tubos de recogida con EDTA, la separación del plasma debe realizarse en un máximo de 3 horas desde que se extrae la muestra mediante una centrifugación inicial a baja velocidad para separar el plasma y una centrifugación a alta velocidad para eliminar restos celulares (1).

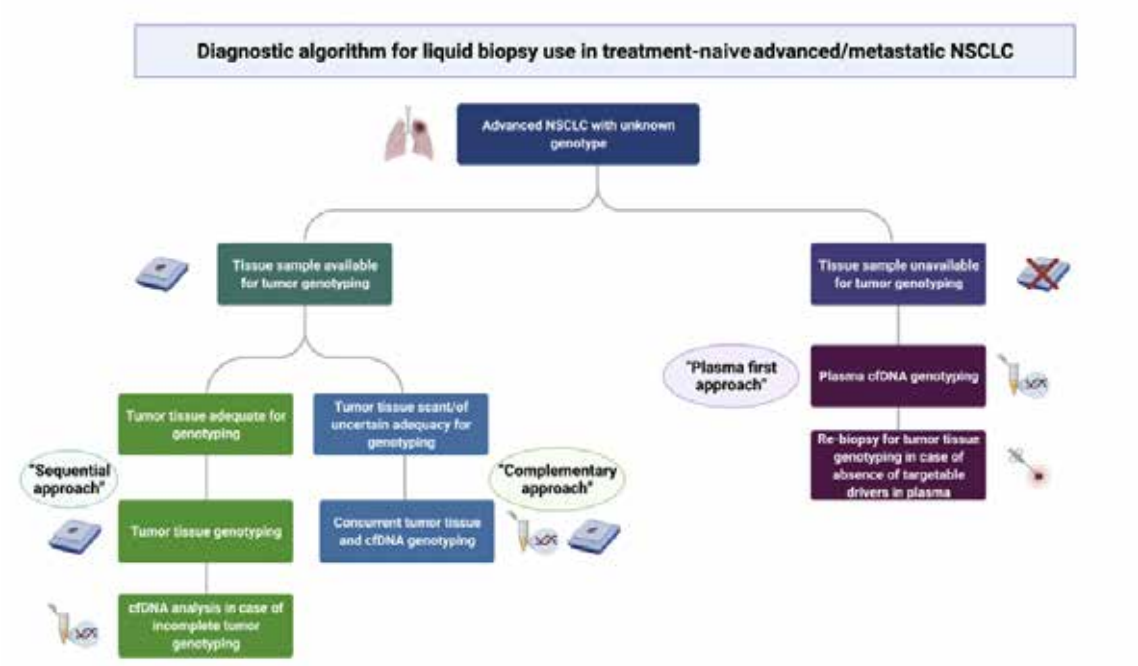
En cuanto a la extracción del ADNtc, existe una amplia variedad de métodos que parten de distintos volúmenes de plasma, pero en general se recomienda utilizar la mayor cantidad de plasma disponible para aumentar la sensibilidad de detección. Fundamentalmente hay dos tipos de extracción, columna con membrana de sílice y *beads* magnéticas (aisla fragmentos más pequeños de ADNlc). El ADNlc se puede almacenar durante varios meses a -20ºC o -80ºC, teniendo en cuenta que la integridad se puede ver afectada después de 3 ciclos de congelación y descongelación (1).

La PCR a tiempor real y la PCR digital son técncias aprobadas por la FDA en biopsia líquida para la detección de mutaciones conocidas con una alta sensibilidad, rapidez y bajo coste. Por el contrario, la NGS permite analizar un amplio número de genes potencialmente accionables de forma rápida, identificando mutaciones somáticas, variaciones en número de copias y reordenamientos (1, 19, 21).

Por tanto, la optimización de las fase pre-analítica y analítica mejora de manera importante la sensibilidad y especificidad de la técnica reduciendo el número de falsos negativos y positivos. En la interpretación de resultados debe tenerse en cuenta la hematopoyesis clonal de potencial indeterminado o CHIP (*Clonal Hematopoyesis of Indeterminate Potential*), sobre todo en pacientes mayores de 70 años. Las CHIP se pueden definir como variaciones somáticas que las células hematopoyéticas adquieren con la edad. Genes frecuentemente afectados son *ASXL1*, *ATM*, *CBL*, *CHEK2*, *DNMT3A*, *JAK2*, *KMT2D* (*MLL2*), *KRAS*, *BRAF*, *NRAS*, *MPL*, *MYD88*, *SF3B1*, *TET2*, *TP53*, y *U2AF1*. Este ruido de fondo se puede filtrar secuenciando en paralelo las células mononucleares de la sangre periférica del paciente o utilizando algoritmos bioinformaticos que filtren estas variantes (1).

Aunque las muestras de tejido constituyen el primer método de elección para el estudio de biomarcadores en CPNM avanzado, no todos los pacientes tienen suficiente tejido disponible, por lo que en estos casos la biopsia líquida adopta un papel central en la determinación de biomarcadores. Además, la biopsia líquida no sólo debe considerarse como una alteranativa al tejido, sino también como un complemento, ya que aumenta la posibilidad de detectar dianas accionables permitiendo que se puedan tratar más pacientes, salvaguardando a la vez el tejido para los biomarcadores que deben testarse en tejido mediante inmunohistoquímica, como es el caso de PDL1, o para validar resultados negativos obtenidos en biopsia líquida. Cabe destacar que la biopsia líquida puede resolver el problema de la heterogeneidad tumoral, tiene unos tiempos de respuesta menores, es un método menos invasivo y permite realizar el estudio molecular en muestras seriadas (19-21).

**Figura 5.** Algoritmo diagnóstico para el uso de la biopsia líquida en el CPNM avanzado sin tratamiento previo (1, 21).


Diagnostic algorithm for liquid biopsy use in treatment-naive advanced/metastatic NSCLC
Advanced NSCLC with unknown genotype
Tissue sample available for tumor genotyping
Tissue sample unavailable for tumor genotyping
"Plasma first approach"
Plasma cfDNA genotyping
Re-biopsy for tumor tissue genotyping in case of absence of targetable drivers in plasma
Tumor tissue adequate for genotyping
Tumor tissue scant/of uncertain adequacy for genotyping
"Sequential approach"
"Complementary approach"
Tumor tissue genotyping
Concurrent tumor tissue and cfDNA genotyping
cfDNA analysis in case of incomplete tumor genotyping

En cuanto a las aplicaciones clínicas en CPNM, la biopsia líquida está aprobada para seleccionar la primera línea de tratamiento cuando no hay tejido disponible en pacientes con enfermedad avanzada o hay que esperar a una biopsia de tejido que puede retrasar el comienzo del tratamiento, y en la detección de resistencias y monitorización del tratamiento. Otras aplicaciones clínicas que aún requieren validación son la monitorización de la enfermedad mínima residual para identificar pacientes con un alto riesgo de recurrencia, como herramienta para la detección temprana del tumor en pacientes de riesgo que son asintomáticos, y selección y seguimiento de pacientes candidatos a tratamiento con inmunoterapia (1, 19, 20).

## BIOMARCADORES RECOMENDADOS

### EGFR

La incidencia global de mutaciones de EGFR en el CPNM es de aproximadamente el 12 % en pacientes con adenocarcinoma, siendo más prevalente en pacientes jóvenes, mujeres y no fumadoras. Las deleciones en el exón 19 y la mutación puntual L858R en el exón 21 son las alteraciones más frecuentes en *EGFR* (80-85 %). Otras mutaciones menos frecuentes incluyen la mutación G719S en el exón 18 (0,9-4,8 %), la mutación L861X en el exón 21 (0,5-3,5 %) y S768I en el exón 20 (0,5-2,5 %). Todas ellas son sensibilizantes a inhibidores tirosina quinasa o TKIs (*Tirosine Kinase Inhibitors*) (22). Las inserciones en el exón 20 también son alteraciones heterogéneas y poco frecuentes (0,8-4,2 %) que desde hace poco tiempo son accionables y que algunos kits de PCR a tiempo real no detectan, por lo que se hace necesaria la realización de NGS para detectar todas las posibles variantes de inserción en el exón 20 y anotarlas de forma precisa (23). La mutación de resistencia más frecuente a TKIs de primera y segunda generación es la mutación T790M, siendo la mutación C797X las más frecuentes con los TKIs de tercera generación. También pueden aparecer alteraciones en otros genes como mecanismo de resistencia a TKIs, como son las amplificaciones de *MET* (24).

Cuando las mutaciones de *EGFR* comenzaron a determinarse en CPNM hace ya un par de décadas, principalmente se usaba secuenciación directa (Sanger) y aproximaciones basadas en PCR a tiempo real. En la actualidad las guías clínicas recomiendan realizar NGS para el estudio de *EGFR* (2).

**ALK**

Los reordenamientos de *ALK* ocurren en el 4-5 % de los adenocarcinomas de pulmón con patrones de crecimiento acinar y/o sólido o con la presencia de células en anillo de sello, estadios avanzados y pacientes nunca fumadores o poco fumadores (25). La alteración más frecuente es el reodenamiento de *ALK*, siendo *EML4* el *partner* o compañero de fusión más frecuente (95 %). También se conocen otros posibles *partners* de fusión menos frecuentes como *KIF5B*, *TFG*, *KLC1*, *PTPN3*, *HIP1*, *STRN*, *TPR*, *DCTN1*, *SQSTM1*, *NPM1*, *BCL11A*, y *BIRC6*. Las fusiones de *ALK* generan una sobreexpresión proteica del gen y son mututamente excluyentes con otras alteraciones oncogénicas. Estas fusiones oncogénicas generan proteínas de fusión con actividad quinasa constitutiva que dan lugar a procesos oncogénicos de proliferación y supervivencia celular (26). Las mutaciones de ALK tienen que ver con mecanismos de resistencia al tratamiento con TKIs. También pueden aparecer alteraciones en otros genes como mecanismo de resistencia. Entre estos genes se encuentra *KRAS*, *ERBB2*, *BRAF*, *EGFR*, *MET*, *MEK*, *KIT* y *TP53*, entre otros (27).

FISH, inmunohistoquímica, RT-PCR o NGS se pueden utilizar como técnicas para la detección de reordenamientos de *ALK*. El FISH con sondas *break apart* fue el primer test aprobado clínicamente para la detección de las fusiones de *ALK* en CPNM. Una célula es positiva por FISH cuando se observa una señal de fusión y señal 3´y 5´separadas o patrón atípico en el que se observa una señal de fusión y señal 3´con pérdida de señal en 5´. Se deben contar al menos 50 células y se debe detectar al menos un 15 % de células translocadas (1). En el caso de realizar inmunohistoquímica, existen clones altamente sensibles como D5F3 o 5A4 que se pueden usar como surrogados para la detección de reordenamientos en ALK. A pesar de que la inmunohistoquímica para ALK es muy sensible para detectar reordenamientos utilizando los clones adecuados, existen varias publicaciones con discrepancia entre los resultados de FISH e inmunohistoquímica. Algunos datos sugieren tumores ALK positivos por inmunohistoquímica y negativos por FISH que responden peor al tratamiento, aunque se haya detectado la fusión por NGS. La base de por qué ocurre esto y el curso clínico adverso es incierto (28). En un principio, la RT-PCR no estaba recomendada para la identificación rutinaria de las fusiones de ALK por la dificultad para obtener ARN de alta calidad a partir de tejido fijado en formol e incluido en parafina y la presencia de múltiples *partners* de fusión que pudieran dar falsos negativos si el test no los incluía para su detección. Sin embargo, el ARN se encuentra relativamente bien conservado en muestras parafinadas y las técnicas de extracción se han mejorado, por lo que actualmente existen varios test de RT-PCR comercialmente disponibles. La limitación de la RT-PCR es la incapacidad para identificar fusiones no incluidas en el diseño del test. Las mutaciones y fusiones de *ALK* se pueden detectar realizando NGS a partir de ADN o ARN de muestras de tejido parafinado. La ventaja de la NGS es que puede identificar el *partner* de fusión así como detectar alteraciones en otros genes diferentes a *ALK* (1).

**ROS1**

Las fusiones de *ROS1* son poco frecuentes en CPNM ya que se detectan en el 0,9-2,9 % de los tumores. Suelen ser más prevalentes en pacientes jóvenes, mujeres y nunca fumadoras, y se diagnostican en pacientes en estadios avanzados con adenocarcinomas TTF1 positivos (1). Histológicamente, las fusiones de *ROS1* pueden estar asociadas con arquitectura sólida y cribiforme, presencia de psammomas y células en anillo de sello. Los *partners* de fusión más frecuentes son *CD74* (38-58 %), *EZ* (13-24 %), *SDC4* (9-13 %), *SLC34A2* (5-10 %), *TPM3* (3-15 %), *FIG* o *GOPC* (2-3 %), entre otros. No se han reportado mutaciones o amplificaciones activadoras del gen *ROS1* en el CPNM, y los reordenamientos de ROS1 que ocurren con mutaciones concomitantes son muy poco frecuentes, representados principalmente por mutaciones de *EGFR* o *KRAS* (29).

La técnica *gold* estándar para la detección de fusiones de *ROS1* es el FISH mediante sondas *break apart*. Se pueden observar dos patrones de translocación, el primero con una señal de fusión y una señal 3´y 5´separadas, y un patrón atípico en el que se observa una señal 3´aislada y una señal de fusión sin señal para 5´. Se recomienda analizar al menos 50 células observándose al menos 15 % de células translocadas para considerar fusión de *ROS1* positiva. La inmunohistoquímica se puede utilizar como técnica de *screening*. Hay tres clones comercialmente disponibles (D4D6, SP384 y 1A1). Todos ellos tienen una alta sensibilidad (90-100 %) en comparación con el FISH y la NGS, pero con menos especificidad (70-90 %), por lo que el FISH o NGS son necesarias para confirmar una fusión de *ROS1* detectada por inmunohistoquímica. Aunque no hay patrones de evaluación establecidos, se considera que una expresión difusa fuerte citoplasmática podría estar relacionada con una fusión de *ROS1*. Aunque la tinción suele ser citoplasmática y granular, la tinción del aparato de Golgi o de membrana puede estar relacionada con algunas variantes de fusión con *CD74* y *EZR*.

**BRAF**

Las mutaciones de *BRAF* se detectan en el 3-8 % de los CPNM. Las alteraciones más frecuentes son las mutaciones en el codón V600 o en los residuos 464 a 469, y se clasifican en tres clases según la mutación (30):

- Clase I: Mutaciones en el codón V600 (V600E, V600K, V600D, V600M, V600L y V600R). Provocan una fuerte activación de *BRAF* con activación constitutiva de la vía *MAPK* independiente de las alteraciones en *RAS*.
- Clase II: Se caracterizan por una actividad quinasa intermedia independiente de la activación de *RAS*. Se incluyen mutaciones K601, L597, G464 y G469.
- Clase III: Tienen una actividad quinasa comprometida y requieren la activación de *RAS* y la formación de heterodimero de *CRAF* no mutado para ser completamente funcional.

Las mutaciones clase II y III se consideran mutaciones no-V600 y constituyen el 50 % de las mutaciones totales detectadas en CPNM. Hoy día solamente son accionables las mutaciones clase I.

Las mutaciones de *BRAF* se asocian mayoritariamente con mujeres, aunque las mutaciones no-V600 se asocian más con hombres, en estadios avanzados y pacientes muy fumadores. Las mutaciones V600E se asocian más con pacientes nunca fumadores. Se pueden detectar co-mutaciones de *BRAF* con *TP53*, *STK11*, *KRAS* y *NF1*. Las co-mutaciones en *SMAD4* y *PIK3CA* suelen asociarse con las mutaciones de *BRAF* V600, mientras que las mutaciones en *KEAP1*, *NF1*, *MET*, *RICTOR*, *KRAS*, *MYC*, *STK11* y *TP53* ocurren más frecuentemente con las no-V600. Las deleciones y las amplificaciones en BRAF pueden aparecer como mecanismo de resitencia en pacientes tratados con inhibidores de *BRAF* y *MEK*. Las fusiones de *BRAF* son muy poco frecuentes en CPNM (menos del 1 %), siendo *AGK* el *partner* de fusión más frecuente (31).

Si se sospecha una mutación de BRAF, se recomienda realizar PCR a tiempo real o NGS, ya que a nivel inmunohistoquímico el clon VE1 sólo detecta la mutación V600E. La PCR a tiempo real es una técnica rápida, reproducible, altamente sensible y específica. Sin embargo, algunos tests de PCR a tiempo real no incluyen la detección de mutaciones en el exón 11. Por el contrario, la NGS tiene la capacidad de detectar todas las posibles mutaciones de BRAF en los exones 11 y 15, así como co-mutaciones que pueden ocurrir con BRAF.

**NTRK**

Las fusiones de *NTRK* son muy poco frecuentes en CPNM (0,1-0,3 %). Se puede sospechar una fusión de *NTRK* en pacientes jóvenes, nunca o muy poco fumadores (1, 32). Las más frecuentes afectan a *NTRK1* y *NTRK3*, y se conocen al menos 16 *partners* de fusión (33). Aunque las fusiones de *NTRK* son mutuamente excluyentes con otros genes conducores o *driver de novo*, pueden aparecer como mecanismo de resistencia en los pacientes tratados con TKIs, como por ejemplo *KRAS* G12D, *BRAF* V600E, mutaciones de *MEK* o amplificaciones de *MET* (1).

Las fusiones oncogénicas de *NTRK* dan lugar a una fuerte sobreexpresión proteica que puede detectarse por inmunohistoquímica mediante un anticuerpo pan-TRK (EPR17341 de Abcam o A7H6R de Cell Signaling) que es un surrogado de la presencia de fusiones de *NTRK*. La técnica de inmunohistoquímica es coste-efectiva, rápida y se puede integrar fácilmente en el flujo de trabajo del laboratorio. La expresión de *NTRK* por inmunohistoquímica puede ser de intensidad variable y la localización subcelular (citoplasmática, nuclear o membranosa) dependerá del compañero o *partner* de fusión. Actualmente no hay consenso en cuanto a cómo definir la positividad de *NTRK* por inmunohistoquímica, por lo que cualquier expresión proteica debe confirmarse por un método ortogonal basado en ácidos nucleicos. La técnica recomendada para el estudio de *NTRK* en CPNM es la NGS, y preferiblemente a partir de ARN, ya que la NGS basada en ADN no cubre las grandes regiones intrónicas en *NTRK3* lo que reduce considerablemente la sensibilidad de la técnica (1). También se puede utilizar la técnica de FISH utilizando sondas *break apart* diferentes para *NTRK1*, *NTRK2* y *NTRK3*. La técnica de FISH se suele utilizar como una técnica confirmatoria pero no es la técnica de elección en cáncer de pulmón (34).

### *RET*

Las fusiones de *RET* se detectan en el 1-2 % de los adenocarcinomas de pulmón. Los pacientes que presentan fusiones de *RET* suelen ser pacientes jóvenes, siendo la mayoría nunca fumadores. Los *partners* de fusión más frecuentes son *KIF5B* (72 %), *CCDC6* (23 %), *NCOA4* (2 %), *EPHA5* (1 %) y *PICALM* (1 %) (35). Como mecanismos de resistencia al tratamiento con TKIS de *RET* pueden aparecer mutaciones en *RET* y co-alteraciones en otros genes como amplificaciones de *MET*, amplificaciones o mutaciones de *KRAS*, mutación V600E de *BRAF*, amplificación de *FGFR1* y fusión de *NTRK3* (35, 36).

La técnica de inmunohistoquímica para *RET* tiene una baja sensibilidad (55-65 %) que varía con el *partner* de fusión y una especificidad variable (40-85 %). Por tanto, la técnica de inmunohistoquímica no está recomendada para la detección de fusiones de *RET* en CPNM. Sin embargo, el FISH de *RET* tiene un 100 % de sensibilidad, excepto en el caso de la fusión NCOA4::*RET* (66,7 %), y una especificidad del 55-100 %. Cómo la variedad de *partners* de fusión es elevada, se recomiendan las sondas *break apart* frente a las de fusión. Se considera que el FISH es positivo si al menos el 15 % de las células tumorales muestran una señal de fusión y señales 3´y 5´ separadas o sólo señal 3´. Aunque la RT-PCR es específica, sólo está limitada a la detección de fusiones conocidas. Y en cuanto a la NGS, preferiblemente en ARN, permite identificar todas las variantes de fusión de *RET*, ya sean conocidas o *de novo*, a la vez que permite estudiar otros genes potencialmente accionables o de resistencia (37).

### MET

La alteración de *MET* en CPNM se produce a través de varios mecanismos moleculares que incluyen mutaciones, amplificaciones, sobreexpresión y fusiones (1). Las mutaciones suelen estar relacionadas con cambios de sentido y deleciones e inserciones en y alrededor de los sitios de empalme que flanquean el exón 14 y que provocan la pérdida del exón (38). La pérdida del exón 14 se produce en el 3-4 % de los pacientes con CPNM independientemente del hábito tabáquico, y suelen ser mututamente excluyentes con otras mutaciones conductoras aunque pueden aparecer comutaciones en *KRAS* en el 4 % de los casos. Las amplificaciones de *MET* pueden ser *de novo* en el 1-5 % de los CPNM en relación a mal pronóstico (39) o por resistencia a tratamientos en el 5-20 % de los casos, fundamentalmente al tratamiento con inhibidores de *EGFR*, y más recientemente descrito como consecuencia del tratamiento con inhibidores de *ALK*, *RET* y *ROS1*. Las fusiones intergénicas de *MET* son raras en CPNM (0,5 % de los casos), y la sobreexpresión proteica de *MET* se ha descrito en aproximadamente el 20 %-48 % de los pacientes. La correlación entre la sobreexpresión proteica y las alteracones a nivel genómico es poco consistente, y sólo algunos casos con *skipping* del exón 14 de *MET* pueden mostrar una sobreexpresión proteica significativa a nivel de inmunohistoquímica. Sin embargo, ya hay datos que sugieren que la sobreexpresión proteica de *MET* podría predecir sensibilidad a los inhibidores utilizados para los pacientes con *skipping* de *MET* (40).

Dada la diversidad de alteraciones activadoras de *MET*, las guías recomiendan realizar el estudio de *MET* mediante NGS, ya que es la única técnica disponible que puede detectar el mayor número de alteraciones posibles. En el caso de detección de amplificaciones por NGS en ADN, las que son detectadas con un alto número de copias en el contexto de suficiente celularidad tumoral no necesitarían ser confirmadas mediante otra técnica. Pero si el porcentaje de células tumorales es bajo y/o el número de copias de *MET* también lo es, se recomienda confirmar dicha amplificación por FISH. Aunque no hay puntos de corte estandarizados para guiar tratamiento en función de la amplificación de *MET*, los estudios señalan un amplificación de *MET* de alto nivel si el ratio MET/CEP7 se encuentra entre 4-6 o más o el número de copias de *MET* es de 10 o más, pueden predecir respuesta a los inhibidores de *MET* si es *de novo* o si es adquirida por resistencia al tratamiento. La ventaja de la NGS frente al FISH es que la NGS puede dar una visión más global del número de copias de *MET* en toda la sección, evitando la posible heterogeneidad tumoral, además de multiplexar el análisis de alteraciones adicionales de *MET* y de otros genes accionables. Alternativamente, la NGS basada en ADN puede utilizarse para detectar variantes estructurales que predicen el *skipping* del exón 14 y fusiones de *MET*. En la mayoría de los casos, estas alteraciones pueden detectarse por NGS en ADN si hay suficiente cobertura en las regiones de *splicing* e intrónicas que flanquean el exón 14. Sin embargo, esto no suele ser fácil debido al tamaño tan grande de los intrones y a la presencia de secuencias repetitivas, lo que puede afectar a la fiabilidad de la NGS basada en ADN. Por eso, en este caso es preferible la utilización de la NGS basada en captura de híbridos que la de amplicones. Sin embargo, incluso con la captura de híbridos puede no detectarse el *skipping* del exón 14, por lo que en cualquier caso es preferible la NGS basada en ARN o la RT-PCR (41).

**KRAS**

La mutación de *KRAS* es la mutación oncogénica más frecuente en CPNM (25-32 %), tanto en estadios tempranos como avanzados, y se asocia con el hábito tabáquico en relación a un peor pronóstico (42). Las mutaciones de *KRAS* no suelen coexistir con otros genes conductores oncogénicos, a no ser que aparezcan resistencias al tratamiento. Además de mutaciones, también se puede producir un incremento en el número de copias de *KRAS* así como disbalances alélicos (43).

La mayoría de las mutaciones puntuales ocurren en los exones 2 y 3, y afectan los codones G12, G13 y Q61. En pulmón, la mutación G12C es la más frecuente (41 %), mientras que la G12V y G12D representan el 21 % y 17 %, respectivamente (44). La detección de las mutaciones de *KRAS*, incluyendo la variante G12C, se puede realizar a partir de cualquier muestra de ADN de tejido, citología y biopsia líquida mediante PCR a tiempo real y/o NGS.

**HER2**

En el CPNM se ha descrito la amplificación, sobreexpresión y mutación de *HER2* (sobre todo en el exón 20), existiendo muy poca correlación entre la sobreexpresión y la amplificación de *HER2*. La amplificación se ha demostrado en entre el 2-22 % de los casos de CPNM, mientras que la sobreexpresión se detecta entre el 2,4 % y el 38 % (45). Las mutaciones de *HER2* se detectan en menos del 2 % de los CPNM y se asocian con la histología de adenocarcinoma, pacientes no fumadores o nunca fumadores, y mujeres. Los pacientes con mutaciones de *HER2* suelen presentar metástasis cerebrales hasta en el 47 % de los casos, son mutuamente excluyentes con otras alteraciones conductoras, y normalmente no se asocian con amplificación o sobreexpresión de *HER2* (46). En general, las alteraciones de *HER2* en CPNM no se asocian con resistencias adquiridas a terapias dirigidas.

Los métodos empleados para el estudio de las alteraciones de HER2 incluyen técnicas basadas en PCR, NGS, inmunohistoquímica y FISH.

**PDL1**

PDL1 es un biomarcador con valor predictivo para el tratamiento con inmunoterapia. En el CPNM la inmunoterapia es una estrategia efectiva cuando no hay otros biomarcadores accionables, tanto en monoterapia o en combinación con quimioterapia en enfermedad localmente avanzada o metastásica, y en enfermedad temprana como terapia adyuvante y neoadyuvante.

El beneficio de la inmunoterapia se relaciona con la expresión proteica de PDL1, la cual se puede detectar por inmunohistoquímica en células tumorales y en células inmunes que infiltran el tumor. Los cuatro clones más frecuentemente utilizados son el 22C3, 28-8, SP263 y SP142, cada uno de los cuales tiene unas pautas de evaluación y unos umbrales de positividad distintos. Los clones 22C3, SP142 y 28-8 son los tres anticuerpos aprobados por la FDA para farmacodiagnóstico. Los algoritmos de análisis para evaluar la expresión de PDL1 son:

- TPS (Tumor Proportional Score) es el porcentaje de células tumorales viables con tinción parcial o completa de membrana con respecto a todas las células tumorales viables presentes en la muestra.
- CPS (Combined Positive Score) es la suma de todas las células PDL1 positivas (células tumorales, linfocitos y macrófagos) dividido entre el número total de células tumorales viables.

En el caso de los anticuerpos 22C3 y 28-8 se deben evaluar como mínimo 100 células tumorales viables, mientras que para la evaluación de SP142 sólo se necesitan 50 células tumorales.

PDL1 es una variable continua, por lo que el resultado hay que expresarlo de forma cuantitativa en lugar de categórica (alto versus bajo), ya que los pacientes con un 1 % de expresión se pueden beneficiar del tratamiento con inmunoterapia al igual que los pacientes con un 40 %, pero a más expresión, más beneficio (1).

**Bibliografía**

1. Sholl L, Cooper W, Kerr K, Tan D, Tsao M, Yang J. IASLC Atlas of Molecular Testing for Targeted Therapy in Lung Cancer: International Association for the Study of Lung Cancer 2023.

2. Isla D, Lozano MD, Paz-Ares L, Salas C, de Castro J, Conde E, y col. New update to the guidelines on testing predictive biomarkers in non-small-cell lung cancer: a National Consensus of the Spanish Society of Pathology and the Spanish Society of Medical Oncology. Clin Transl Oncol 2023;25(5):1252-67.

3. Mileham KF, Schenkel C, Bruinooge SS, Freeman-Daily J, Basu Roy U, Moore A, y col. Defining comprehensive biomarker-related testing and treatment practices for advanced non-small-cell lung cancer: Results of a survey of U.S. oncologists. Cancer Med 2022;11(2):530-8.

4. Smeltzer MP, Wynes MW, Lantuejoul S, Soo R, Ramalingam SS, Varella-Garcia M, y col. The International Association for the Study of Lung Cancer Global Survey on Molecular Testing in Lung Cancer. J Thorac Oncol 2020;15(9):1434-48.

5. Compton CC, Robb JA, Anderson MW, Berry AB, Birdsong GG, Bloom KJ, y col. Preanalytics and Precision Pathology: Pathology Practices to Ensure Molecular Integrity of Cancer Patient Biospecimens for Precision Medicine. Arch Pathol Lab Med 2019;143(11):1346-63.

6. Bubendorf L, Lantuejoul S, de Langen AJ, Thunnissen E. Nonsmall cell lung carcinoma: diagnostic difficulties in small biopsies and cytological specimens: Number 2 in the Series «Pathology for the clinician» Edited by Peter Dorfmüller and Alberto Cavazza. Eur Respir Rev 2017;26(144).

7. Whitcombe D, Theaker J, Guy SP, Brown T, Little S. Detection of PCR products using self-probing amplicons and fluorescence. Nat Biotechnol 1999;17(8):804-7.

8. Takeuchi K, Choi YL, Soda M, Inamura K, Togashi Y, Hatano S, et al. Multiplex reverse transcription-PCR screening for EML4-ALK fusion transcripts. Clin Cancer Res 2008;14(20):6618-24.

9. Vogelstein B, Kinzler KW. Digital PCR. Proc Natl Acad Sci U S A 1999;96(16):9236-41.

10. Yatabe Y BA, Cooper WA, Dacic S, Kerr KM, Moreira AL, Tsao MS IASLC Atlas of Diagnostic Immunohistochemistry 2020.

11. Garraway LA, Lander ES. Lessons from the cancer genome. Cell 2013;153(1):17-37.

12. Anandhakumar C, Kizaki S, Bando T, Pandian GN, Sugiyama H. Advancing small-molecule-based chemical biology with next-generation sequencing technologies. Chembiochem 2015;16(1):20-38.

13. Nesline MK, Subbiah V, Previs RA, Strickland KC, Ko H, DePietro P, y col. The Impact of Prior Single-Gene Testing on Comprehensive Genomic Profiling Results for Patients with Non-Small Cell Lung Cancer. Oncol Ther 2024;12(2):329-43.

14. Pujol N, Heeke S, Bontoux C, Boutros J, Ilié M, Hofman V, y col. Molecular Profiling in Non-Squamous Non-Small Cell Lung Carcinoma: Towards a Switch to Next-Generation Sequencing Reflex Testing. J Pers Med 2022;12(10).

15. Gosney JR, Paz-Ares L, Jänne P, Kerr KM, Leighl NB, Lozano MD, y col. Pathologist-initiated reflex testing for biomarkers in non-small-cell lung cancer: expert consensus on the rationale and considerations for implementation. ESMO Open 2023;8(4):101587.

16. Kerr KM, Bibeau F, Thunnissen E, Botling J, Ryška A, Wolf J, y col. The evolving landscape of biomarker testing for non-small cell lung cancer in Europe. Lung Cancer 2021;154:161-75.

17. Pennell NA, Arcila ME, Gandara DR, West H. Biomarker Testing for Patients With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: Real-World Issues and Tough Choices. Am Soc Clin Oncol Educ Book 2019;39:531-42.

18. Herbst RS, Wu YL, John T, Grohe C, Majem M, Wang J, y col. Adjuvant Osimertinib for Resected EGFR-Mutated Stage IB-IIIA Non-Small-Cell Lung Cancer: Updated Results From the Phase III Randomized ADAURA Trial. J Clin Oncol 2023;41(10):1830-40.

19. Malapelle U, Pisapia P, Addeo A, Arrieta O, Bellosillo B, Cardona AF, y col. Liquid biopsy from research to clinical practice: focus on non-small cell lung cancer. Expert Rev Mol Diagn 2021;21(11):1165-78.

20. Ospina AV. Overview of the Role of Liquid Biopsy in Non-small Cell Lung Cancer (NSCLC). Clin Oncol (R Coll Radiol) 2024;36(10):e371-e80.

21. Rolfo C, Mack P, Scagliotti GV, Aggarwal C, Arcila ME, Barlesi F, y col. Liquid Biopsy for Advanced NSCLC: A Consensus Statement From the International Association for the Study of Lung Cancer. J Thorac Oncol 2021;16(10):1647-62.

22. Melosky B, Kambartel K, Häntschel M, Bennetts M, Nickens DJ, Brinkmann J, y col. Worldwide Prevalence of Epidermal Growth Factor Receptor Mutations in Non-Small Cell Lung Cancer: A Meta-Analysis. Mol Diagn Ther 2022;26(1):7-18.

23. John T, Taylor A, Wang H, Eichinger C, Freeman C, Ahn MJ. Uncommon EGFR mutations in non-small-cell lung cancer: A systematic literature review of prevalence and clinical outcomes. Cancer Epidemiol 2022;76:102080.

24. Mok TS, Wu YL, Ahn MJ, Garassino MC, Kim HR, Ramalingam SS, y col. Osimertinib or Platinum-Pemetrexed in EGFR T790M-Positive Lung Cancer. N Engl J Med 2017;376(7):629-40.

25. Fan L, Feng Y, Wan H, Shi G, Niu W. Clinicopathological and demographical characteristics of non-small cell lung cancer patients with ALK rearrangements: a systematic review and meta-analysis. PLoS One 2014;9(6):e100866.

26. Della Corte CM, Viscardi G, Di Liello R, Fasano M, Martinelli E, Troiani T, y col. Role and targeting of anaplastic lymphoma kinase in cancer. Mol Cancer 2018;17(1):30.

27. Gainor JF, Dardaei L, Yoda S, Friboulet L, Leshchiner I, Katayama R, y col. Molecular Mechanisms of Resistance to First- and Second-Generation ALK Inhibitors in ALK-Rearranged Lung Cancer. Cancer Discov 2016;6(10):1118-33.

28. Selinger CI, Rogers TM, Russell PA, O'Toole S, Yip P, Wright GM, y col. Testing for ALK rearrangement in lung adenocarcinoma: a multicenter comparison of immunohistochemistry and fluorescent in situ hybridization. Mod Pathol 2013;26(12):1545-53.

29. Drilon A, Jenkins C, Iyer S, Schoenfeld A, Keddy C, Davare MA. ROS1-dependent cancers - biology, diagnostics and therapeutics. Nat Rev Clin Oncol 2021;18(1):35-55.

30. Gendarme S, Bylicki O, Chouaid C, Guisier F. ROS-1 Fusions in Non-Small-Cell Lung Cancer: Evidence to Date. Curr Oncol 2022;29(2):641-58.

31. Bubendorf L, Büttner R, Al-Dayel F, Dietel M, Elmberger G, Kerr K, y col. Testing for ROS1 in non-small cell lung cancer: a review with recommendations. Virchows Arch 2016;469(5):489-503.

32. Riudavets M, Cascetta P, Planchard D. Targeting BRAF-mutant non-small cell lung cancer: Current status and future directions. Lung Cancer 2022;169:102-14.

33. Chen D, Zhang LQ, Huang JF, Liu K, Chuai ZR, Yang Z, y col. BRAF mutations in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. PLoS One 2014;9(6):e101354.

34. Farago AF, Taylor MS, Doebele RC, Zhu VW, Kummar S, Spira AI, y col. Clinicopathologic Features of Non-Small-Cell Lung Cancer Harboring an NTRK Gene Fusion. JCO Precis Oncol 2018;2018.

35. Qin H, Patel MR. The Challenge and Opportunity of NTRK Inhibitors in Non-Small Cell Lung Cancer. Int J Mol Sci 2022;23(6).

36. Cocco E, Schram AM, Kulick A, Misale S, Won HH, Yaeger R, y col. Resistance to TRK inhibition mediated by convergent MAPK pathway activation. Nat Med 2019;25(9):1422-7.

37. Marchiò C, Scaltriti M, Ladanyi M, Iafrate AJ, Bibeau F, Dietel M, y col. ESMO recommendations on the standard methods to detect NTRK fusions in daily practice and clinical research. Ann Oncol 2019;30(9):1417-27.

38. Michels S, Scheel AH, Scheffler M, Schultheis AM, Gautschi O, Aebersold F, y col. Clinicopathological Characteristics of *RET* Rearranged Lung Cancer in European Patients. J Thorac Oncol 2016;11(1):122-7.

39. Lin JJ, Liu SV, McCoach CE, Zhu VW, Tan AC, Yoda S, y col. Mechanisms of resistance to selective *RET* tyrosine kinase inhibitors in *RET* fusion-positive non-small-cell lung cancer. Ann Oncol 2020;31(12):1725-33.

40. Belli C, Penault-Llorca F, Ladanyi M, Normanno N, Scoazec JY, Lacroix L, y col. ESMO recommendations on the standard methods to detect *RET* fusions and mutations in daily practice and clinical research. Ann Oncol 2021;32(3):337-50.

41. Organ SL, Tsao MS. An overview of the c-MET signaling pathway. Ther Adv Med Oncol 2011;3(1 Suppl):S7-s19.

42. Wang F, Liu Y, Qiu W, Shum E, Feng M, Zhao D, y col. Functional Analysis of MET Exon 14 Skipping Alteration in Cancer Invasion and Metastatic Dissemination. Cancer Res 2022;82(7):1365-79.

43. Suzawa K, Offin M, Lu D, Kurzatkowski C, Vojnic M, Smith RS, y col. Activation of KRAS Mediates Resistance to Targeted Therapy in MET Exon 14-mutant Non-small Cell Lung Cancer. Clin Cancer Res 2019;25(4):1248-60.

44. Go H, Jeon YK, Park HJ, Sung SW, Seo JW, Chung DH. High MET gene copy number leads to shorter survival in patients with non-small cell lung cancer. J Thorac Oncol 2010;5(3):305-13.

45. Coleman N, Hong L, Zhang J, Heymach J, Hong D, Le X. Beyond epidermal growth factor receptor: MET amplification as a general resistance driver to targeted therapy in oncogene-driven non-small-cell lung cancer. ESMO Open 2021;6(6):100319.

46. Li A, Niu FY, Han JF, Lou NN, Yang JJ, Zhang XC, y col. Predictive and prognostic value of de novo MET expression in patients with advanced non-small-cell lung cancer. Lung Cancer 2015;90(3):375-80.

# Recomendaciones del Grupo de Trabajo de Patología Osteoarticular de la SEAP

# Claves para un proceso de decalcificación seguro y de calidad

**Empar Mayordomo-Aranda, Francisco Giner-Segura, Cleofé Romagosa, Raúl Rajadel Ramada, Paula González Rojo, MDolores Senabre, Carolina Agra, Daniel Azorín, Silvia Bagué, Verónica Blanco, Adriana Canosa, M.Purificación Domínguez-Franjo, Ana Belén Enguita, Isidro Machado, David Marcilla, Samuel Navarro, Luis Ortega, Jose Juan Pozo-Krelinger, Xavier Sanjuan, Gemma Toledo, Antonio Llombart-Bosch**

La decalcificación es un proceso necesario y comúnmente utilizado en los Servicios de Anatomía patológica que permite el estudio tanto del tejido óseo como calcificado (1). Tiene como finalidad la eliminación de los componentes inorgánicos (sales de $Ca^{+}$), permitiendo su procesado para emitir un diagnóstico tras el estudio morfológico, inmunohistoquímico y molecular. Se realiza sistemáticamente en tejido óseo y dientes, esporádicamente si existe consistencia ósea, y está desaconsejada en enfermedades óseas metabólicas (1).

Es fundamental que en este proceso de decalcificación se preserve la morfología tisular y la integridad de las proteínas, asegurando la adecuada conservación de antígenos para una adecuada morfología, inmunohistoquímica (IHQ), así como la estabilidad del DNA y RNA necesaria para los estudios de biología molecular, garantizando resultados fiables y reproducibles en técnicas como PCR, secuenciación o hibridación in situ.

Antes de iniciar este proceso debemos tener en cuenta aquellos factores que alteran la decalcificación:

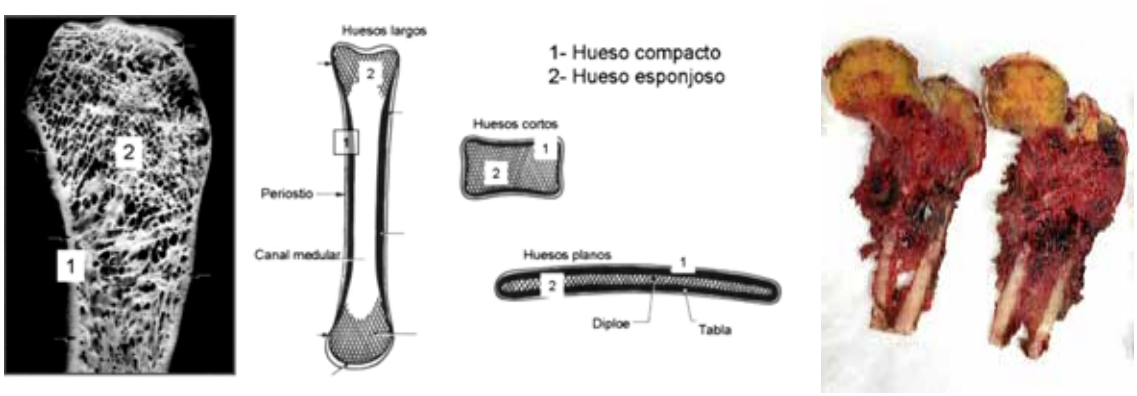
## TIPO DE MUESTRA

- Biopsia por con aguja gruesa (BAG): no requieren preparación previa a la decalcificación; suelen venir en medio fijador, habitualmente formaldehido al 9 % (formol).
- Biopsias escisionales o resecciones oncológicas: piezas completas que necesitan preparación. Debemos serrarlas en secciones de no más de 0,5cm para que el decalcificador penetre. Si incluyen partes blandas, tras fijación, deben procesarse sin decalcificar.
- Biopsias pequeñas o muestras fragmentadas por curetaje: no requieren preparación previa a la decalcificación siempre que sean fragmentos pequeños con hueso poroso; suelen venir en medio fijador, habitualmente formol.
- Muestras de autopsia: deben preparase como las biopsias. Las mejores muestras para el estudio de médula ósea son los huesos planos: el esternón, la pala ilíaca y las costillas.

**TIPO DE HUESO MACROSCÓPICO (IMAGEN 1)**

- Hueso cortical (compacto): masa ósea de alta densidad, pocos huecos, requiere mayor tiempo de decalcificación. Difícil de serrar con una sierra manual.
- Hueso medular: finas espículas o trabéculas entrecruzadas, formando un retículo de cavidades interconectadas ocupadas por médula ósea. Al ser más poroso permite una decalcificación más rápida.

**Imagen 1.** Tipo de hueso histológico. Imagen del Atlas Digital de histología de la UNAM e imagen propia de sarcoma no publicada.




**TIEMPO DE DECALCIFICACIÓN**

Diagnóstico inicial: Urgencia diagnóstica relativa. Requiere métodos rápidos porque determina las actuaciones posteriores, pero sin comprometer la calidad del tejido.

Diagnóstico definitivo: permite el uso de métodos más conservadores para preservar estructuras y biomoléculas.

**OBJETIVO DE LA MUESTRA**

- Diagnóstico histológico convencional: patología no neoplásica degenerativa.
- Diagnóstico histológico con realización de técnicas IHQ y moleculares: patología neoplásica o infecciosa/inflamatoria.

Todas las muestras deben considerarse de gran valor y debemos perseguir una adecuada morfología y una preservación de proteínas, DNA y RNA. Recordad que además de realizar el diagnóstico y determinar un pronóstico en ocasiones es la única muestra para la determinación de dianas terapéuticas, sobre todo en las metástasis.

**MÉTODO DE DECALCIFICACIÓN**

Existen distintos métodos, dependiendo de la urgencia y la necesidad de preservar estructuras celulares y biomoléculas. Tabla 1 extraída de la bibliografía (4) y de los métodos utilizados por los autores del capítulo, aunque existen múltiples marcas y modelos disponibles.

**Ácidos Fuertes (Inorgánicos)**

Los ácidos fuertes eliminan rápidamente el calcio al disolver los minerales óseos, pero pueden afectar la integridad tisular y las biomoléculas como proteínas y ácidos nucleicos. Se utilizan cuando se requiere una decalcificación rápida, aunque comprometen la calidad del tejido para estudios moleculares, por lo que deben evitarse.

- **Ácido Clorhídrico (HCl):** Eliminación muy rápida del calcio. Se utiliza en huesos y tejidos duros (dientes), material queratinizado (verrugas plantares, uñas). No está recomendado para estudios moleculares, ya que puede causar daño en la morfología celular y degradación del DNA/RNA. No se debe usar en punciones de cresta ilíaca. No se debe prolongar excesivamente: Hueso 1x1x0,3mm: 6-8h; Vasos sanguíneos: 30-60min; Uñas y verrugas: 15-60min. Nunca en estufa o corre el riesgo que el tejido desaparezca.
- **Ácido Nítrico ($HNO_3$):** Disuelve rápidamente los cristales de hidroxiapatita, tiene una baja tracción tisular y mejora la coloración de los núcleos, aunque puede causar endurecimiento del tejido. Su uso prolongado puede provocar daño en proteínas y ácidos nucleicos, por lo que no se podría realizar inmunohistoquímica ni FISH. Además, su prolongación excesiva anula la fijación previa y altera la coloración. Para una decalcificación débil se usarán 5 % (50ml ácido + 950ml H2O destilada). Para una decalcificación fuerte se usará el 15 % (150ml ácido + 850ml H2O destilada). El tiempo medio para un bloque óseo de 5mm espesor será de 12-24h. Nunca en estufa o corre el riesgo que el tejido desaparezca, ni puro, sin diluir o nos quedaremos sin muestra para diagnóstico.

**Uso de Ácidos Débiles (Orgánicos)**

Los ácidos débiles actúan más lentamente que los ácidos fuertes, pero ofrecen una mejor preservación de la morfología celular y los antígenos para inmunohistoquímica.

- **Ácido Fórmico (HCOOH):** Actúa más lentamente que los ácidos fuertes, pero fija y decalcifica simultáneamente. Es una buena alternativa cuando se necesita preservar estructuras celulares, siendo adecuado para inmunohistoquímica y algunas aplicaciones moleculares y para decalcificar los dientes. Para mejorar coloración posterior necesita de neutralización.
- **Ácido Acético o Solución de Bouin:** La solución de Bouin (mezcla de ácido acético, ácido pícrico y formaldehído) puede actuar como fijador y medio de decalcificación. Preserva la estructura tisular, pero no es ideal para estudios moleculares.

**Uso de Agentes Quelantes del Calcio**

Los agentes quelantes eliminan el calcio al unirse a los iones de calcio y extraerlos del tejido sin afectar las proteínas ni los ácidos nucleicos. Este método es más lento, pero es el más recomendado cuando se requiere una alta preservación del tejido para estudios inmunohistoquímicos y de biología molecular.

- **EDTA (Ácido Etilenodiaminotetraacético):** Método de decalcificación más seguro para estudios moleculares (DNA y RNA), ya que no altera la morfología celular ni las proteínas. Contiene quelatos que fijan los iones de calcio del tejido y mantiene las estructuras del antígeno. Actúa de forma lenta (días a semanas, dependiendo del grosor del tejido) y se usa en concentraciones de 10-14 % en pH neutro o ligeramente ácido. Se satura, por lo que no existe riesgo de que la muestra desaparezca, pero sí deja de hacer efecto, por lo que debe ser cambiado cada 48h como máximo. En cada cambio, deber ser enjuagada en agua la muestra. Su efecto puede ser acelerado si añadimos calor, dejando nuestra pieza en la estufa; recomendable a 50 %.

**Tabla 1.** Agentes decalcificadores. A la izquierda la extraída de la bibliografía. A la derecha la utilizada por los autores.

Table
Decalcification agents used

| |
|---|
| Formical-4 (formic acid/EDTA/formaldehyde)[a] |
| Formical-2000 (EDTA/formic acid)[a] |
| Immunocal (formic acid)[a] |
| Overnight bone decal (EDTA/HCL)[a] |
| Nitrical (nitric acid)[a] |
| Decal Stat (HCL/EDTA)[a] |
| Surgipath Decalcifier I (formic acid/methanol/formaldehyde)[b] |
| Surgipath Decalcifier II (HCL/EDTA)[b] |
| IMEB (HCL/formic acid)[c] |
| 14% EDTA[d] |

[a] Decal Chemical Corporation, Tallman, NY.
[b] Leica.
[c] IMEB, San Marcos, Calif.
[d] Rowley Biochemical Corporation, Danvers, Mass.

| MARCA | AGENTE DECALDIFICANTE |
|---|---|
| Osteomoll/ Osteosoft | CLORHÍDRICO |
| Bone station/moldecal (Menarini) | EDTA + FÓRMIC + ACÉTICO + CLORHÍDRICO + NÍTRICO + TRICLOROACÉTICO |
| Bio-optica (EDTA) | EDTA |
| DC1 QPATH | ÁC FÓRMICO |
| Mielodec sol B | EDTA |
| Mielodec | EDTA |
| TBD-1 | CLORHÍDRICO |
| Histofix (Panreac) | CLORHÍDRICO + OXÁLICO |
| Decalcifier II LIESCA | CLORHÍDRICO |
| Descalcificador rápido con corrector salino (Casa Álvarez) | FÓRMICO + CLORHÍDRICO |
| Mol-Decalcifier (Milestone) | EDTA |
| MicroDec Fast de Diapath | EDTA |
| DCII | CLORHÍDRICO |

Los estudios publicados (1) recomiendan un periodo inferior a 20h en EDTA para la conservación total de las características morfológicas y biológicas y <10h en las biopsias de médula ósea. De tal forma que no veamos reducida la expresión de biomarcadores como es el PD-L1, que fue estadísticamente significativa la reducción de expresión, a partir de las 48h en decalcificación.

Igualmente hacen referencia a los clones del inmunomarcador, Mientras que para el anticuerpo 22C3, la decalcificación (especialmente con ácido DC3) resultó en una disminución significativa tanto en la cantidad como en la intensidad de la tinción, E1L3N mostró una disminución en la intensidad de tinción solo después de la decalcificación prolongada (más de 3 días) con ácido.

Los descalcificadores Ideales son aquellos que consiguen una eliminación completa sales de $Ca^{+}$, sin producir efectos adversos sobre los tejidos y sin interferir en la tinción (1-4). Los autores, en general defienden el uso del EDTA porque proporciona buenos resultados morfológicos y ADN de alta calidad para realizar análisis molecular. Y apuntan que sorprendentemente, el EDTA no se usa comúnmente en los laboratorios de patología, probablemente porque la descalcificación con EDTA lleva mucho más tiempo en comparación con otros descalcificadores (2).

El EDTA proporciona la mejor conservación de la muestra de las soluciones, pero a costa de un tiempo de procesamiento prolongado para el hueso adulto y las muestras de más de 3 mm de espesor. Hay autores que defienden que el ácido nítrico al 5 % es una opción equilibrada, fundamentalmente para el estudio morfológico a un ritmo mucho más rápido que el EDTA (3).

Desde el grupo de trabajo de patología osteoarticular hemos comparado qué decalcificadores utilizamos en la actualidad y hace 10 años (Tabla2) y a partir de ahí hacemos unas recomendaciones que sirvan de guía para mejorar este proceso en el resto de los centros. En los gráficos 1 y 2 agrupamos los decalcificadores para cada tipo de muestra.

**Figura 1.** Métodos de decalcificación para biopsias cilíndricas. Nótese cómo ha aumentado el uso de EDTA y ác. Fórmico, sustituyendo así a ácidos fuertes.

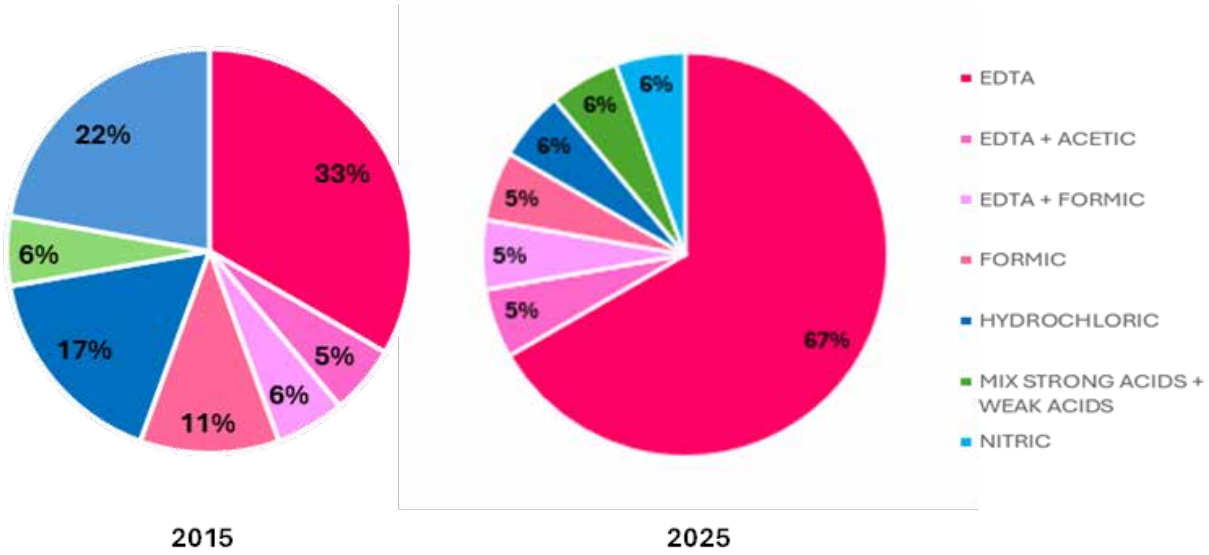



**Figura 2.** Métodos de decalcificación para biopsias grandes. Nótese cómo se han reducido los ácidos fuertes, pero sin desaparecer del todo por ser útiles para aumentar la velocidad de decalcificación y las piezas de hueso más denso.

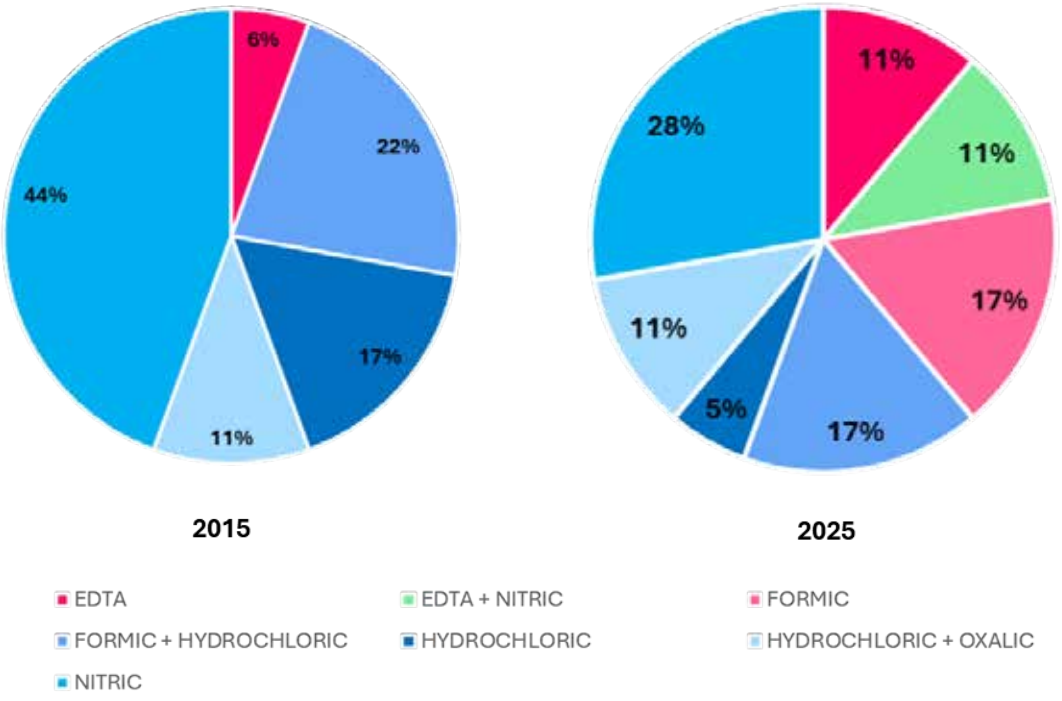


**Tabla 2.** Métodos de decalcificación por tipo de pieza. Comparativa hace 10 años y en la actualidad.

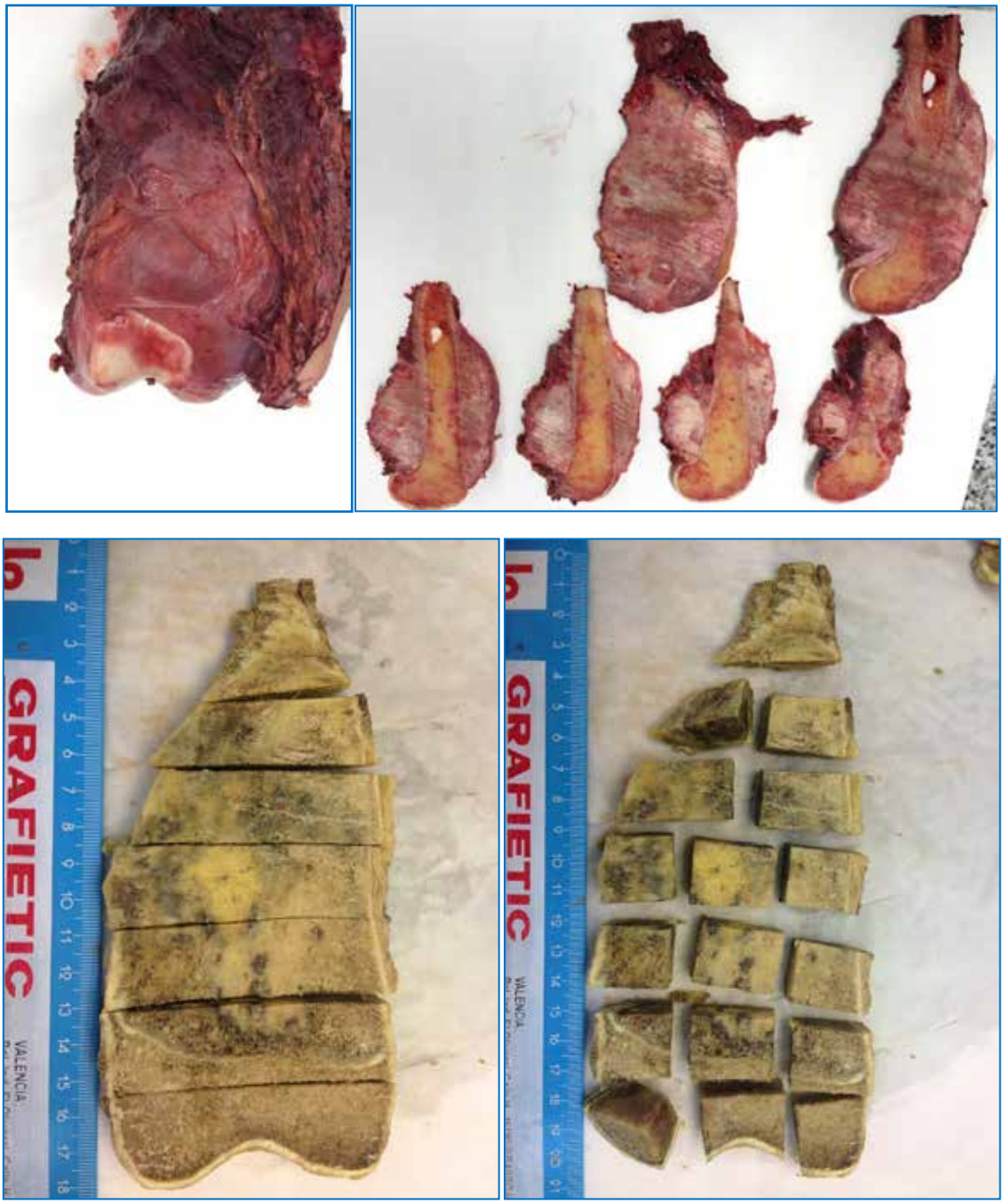
| | 2015 | | 2025 | |
|---|---|---|---|---|
| HOSPITAL | BX PEQUEÑAS | PIEZAS GRANDES | BX PEQUEÑAS | PIEZAS GRANDES |
| H. Miguel Servet | NÍTRICO | NÍTRICO | EDTA | NÍTRICO |
| HUCA-Asturias | EDTA | NÍTRICO | EDTA | NÍTRICO |
| H. La Fe Valencia | EDTA | NÍTRICO | EDTA | EDTA |
| H. La Paz | CLORHÍDRICO + FORMALDEHIDO | NÍTRICO | EDTA | EDTA + NÍTRICO |
| HCU Valencia | NÍTRICO | NÍTRICO | EDTA | NÍTRICO |
| IVO | NÍTRICO | NÍTRICO | NÍTRICO | NÍTRICO |
| H. Alcorcón | C + ACÉTICO + CLORHÍDRICO + NÍTRICO + TRI | NÍTRICO | CO + CLORHÍDRICO + NÍTR | NÍTRICO |
| H. Gregorio Marañón | EDTA + ACÉTICO | EDTA | EDTA + ACÉTICO | EDTA |
| H. Virgen Rocío | EDTA | FORMALDEHIDO | EDTA | FORMALDEHIDO |
| H. Niño Jesus | FÓRMICO + FORMALDEHIDO | CLORHÍDRICO | EDTA | FÓRMICO + FORMALDEHIDO |
| H. Vall de Ebrón | FÓRMICO + FORMALDEHIDO | CLORHÍDRICO | EDTA | FÓRMICO + FORMALDEHIDO |
| H. Clínico San Carlos | EDTA | FÓRMICO + CLORHÍDRICO | EDTA | FÓRMICO + CLORHÍDRICO |
| MD Anderson Madrid | EDTA | FORMALDEHIDO | EDTA | FORMALDEHIDO |
| Heath Diagnostics, Quiron Salud | FÓRMICO + CLORHÍDRICO | FÓRMICO + CLORHÍDRICO | FÓRMICO + CLORHÍDRICO | FÓRMICO + CLORHÍDRICO |
| H. de la Ribera, Alzira | CLORHÍDRICO | CLORHÍDRICO | CLORHÍDRICO | CLORHÍDRICO |
| H.U. Bellvitge | NÍTRICO | FÓRMICO + CLORHÍDRICO | EDTA | FÓRMICO + CLORHÍDRICO |
| H. Sant Pau | EDTA | FÓRMICO + CLORHÍDRICO | FÓRMICO | FÓRMICO |
| H. 12 Octubre | CLORHÍDRICO + FORMALDEHIDO | NÍTRICO | EDTA | EDTA + NÍTRICO |

Se puede concluir desde la bibliografía y la experiencia propia del grupo, que los agentes descalcificadores preferidos para optimizar morfología y cantidad y calidad de los ácidos nucleicos recuperados de las muestras de biopsia ósea son aquellos que contienen como agentes únicos o en combinación 14 % EDTA o ácido fórmico (4), siendo necesarios varios métodos para las piezas de mayor tamaño y con mayor cantidad de matriz mineralizada.

Todos los autores y nuestra experiencia propia vemos necesaria una preparación previa en las piezas de resección ósea, así como un control de los tiempos y una adaptación de los protocolos en función de la muestra remitida. A continuación, repasamos el tallado macroscópico de dichas piezas.

En primer lugar, se debe realizar una descripción macroscópica en la que se detallan características como tamaño, forma, color, consistencia y posibles lesiones. La pieza se sierra en secciones paralelas, longitudinales al eje mayor de la misma y siempre en concordancia con las técnicas de imagen, de tal forma que permitan confirmar sospechas clínicas que hayan determinado una u otra cirugía. Esto no significa que se deba tener la radiología delante, aunque sería de gran ayuda para situarnos. En caso de no poder orientar adecuadamente la pieza, fundamentalmente en la pelvis, será necesario un trabajo en equipo quirúrgico que nos ayuden a orientar la pieza. Es preferible que se acerquen a nuestro puesto de tallado o empleemos tiempo en revisar la pieza a que una vez procesada no podamos informar de un borde concreto positivo dónde sería necesario aplicar radioterapia, por ejemplo. Es imprescindible orientar la pieza antes de serrarla y recomendable pintarla. Es recomendable y no obligatorio por el riesgo que existe de transmisión de tinta hacia el interior si utilizamos sierras mecánicas. Se puede serrar y una vez tenemos las secciones, pintar los extremos. Esto no será posible si eliminamos partes blandas de la pieza; en este supuesto se pintará la pieza antes de seccionar. Una vez serrada, se dejan fijar las secciones en formol entre 6 y 24h idealmente y se proceden a decalcificar según recomendamos a continuación (imagen 2). Una vez decalcificada la pieza, se eligen las áreas más representativas para incluir en los casetes de procesamiento. Los fragmentos se introducen en casetes de plástico perforados para su posterior inclusión en parafina.

**Figura 3.** Tallado macroscópico de las piezas de resección óseas. Nótese el cambio de color y consistencia tras decalcificación (imágenes de abajo). Se recomienda un mapeo de la pieza para valorar respuesta a adyuvancia.



A continuación, una guía práctica del procesado de las piezas ósea según el tipo de hueso: BAG de lesiones óseas y MO (Figura 4), piezas de resección quirúrgicas (Figura 5):

**Figura 4.** Decalcificación de las piezas de BAG. El termómetro define si incluye estufa a 50C termómetro en rojo o no, termómetro en azul. El enjuaque el agua corriente es mejor que agua estanca.

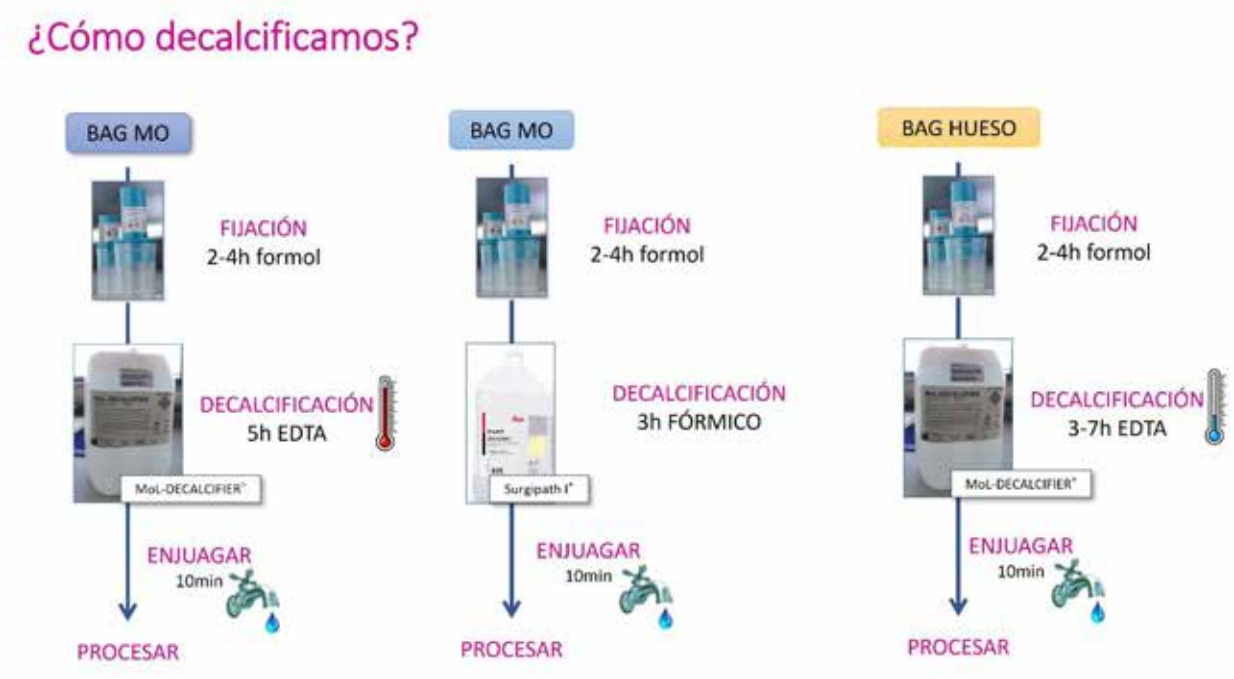
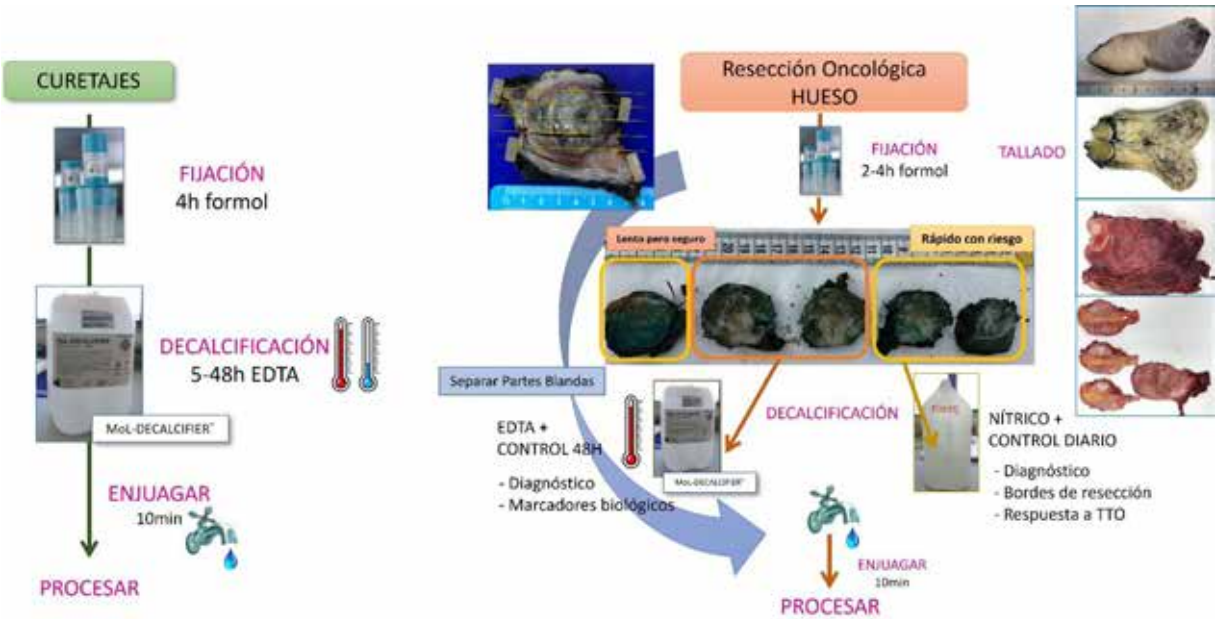



**Figura 5.** Decalcificación de las piezas de resección. Según el Hospital se elimina la parte de nítrico y sustituye por otro decalcificados (ver Tabla 2) también válido siempre de forma controlada.



**CONCLUSIONES**

- La decalcificación es un proceso necesario para el procesado hueso
- Puede ser la única muestra
  - En metástasis para definir tratamiento y pronóstico
  - En patología primaria ósea
- Debe ser controlado y consciente para no alterar propiedades de las células
- Puede ser controlado por técnicos superiores de anatomía patológica y citología instruidos
- Mejor método descalificador: EDTA y ácido fórmico
- Hay que evitar: decalcificaciones agresivas: Ácidos fuertes (Nítrico, Clorhídrico…) y no controladas

**Bibliografía**

1. Forest, F. et al. (2019). Impact of delayed fixation and decalcification on PD-L1 expression: A comparison of two clones. Virchows Archiv, 475(5), 575–585. https://doi.org/10.1007/s00428-019-02613-w

2. Confavreux CB, Girard N, Pialat JB, Bringuier PP, Devouassoux-Shisheboran M, Rousseau JC, Isaac S, Thivolet-Bejui F, Clezardin P, Brevet M. Mutational profiling of bone metastases from lung adenocarcinoma: results of a prospective study (POUMOS-TEC). Bonekey Rep. 2014 Oct 1;3:580. doi: 10.1038/bonekey.2014.75. PMID: 25328676; PMCID: PMC4181073.

3. Cornelison JB, Isaac CV, Devota CJ, Billian J, Brown TT, deJong JL, Douglas EA, Fisher-Hubbard AO, Lackey-Cornelison WL, Prahlow JA, Shattuck BL. A comparison of three decalcification agents for assessments of cranial fracture histomorphology. J Forensic Sci. 2022 May;67(3):1157-1166. doi: 10.1111/1556-4029.14990. Epub 2022 Feb 2. PMID: 35112350.

4. Singh VM, Salunga RC, Huang VJ, Tran Y, Erlander M, Plumlee P, Peterson MR. Analysis of the effect of various decalcification agents on the quantity and quality of nucleic acid (DNA and RNA) recovered from bone biopsies. Ann Diagn Pathol. 2013 Aug;17(4):322-6. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2013.02.001. Epub 2013 May 6. PMID: 23660273.

# Recomendaciones del Grupo de Trabajo de Patología de Partes Blandas de la SEAP

# Pseudosarcomas: que necesitas saber para evitar sobrediagnosticar el sarcoma

**Ruth Orellana Fernández[1], Adela Alonso Fernández-Velasco[2], Elena Prados Pérez[3], Caterina Fumagalli[1], Empar Mayordomo Aranda[4], Cleofé Romagosa Pérez-Portabella[5]**

1. *Servicio de Anatomía Patológica. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona*
2. *Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Central de Asturias. Universidad de Oviedo. Biobanco del Principado de Asturias. Oviedo*
3. *Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario son Espases. Palma de Mallorca*
4. *Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitari i Politecnic La Fe. Valencia*
5. *Servicio de Anatomía Patológica Hospital Universitario Vall d'Hebron. Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona*

## INTRODUCCIÓN

Los sarcomas son tumores malignos de origen mesenquimal que representan aproximadamente el 1 % de los casos de cáncer e incluyen más de 80 entidades clínico-patológicas, lo que dificulta la adquisición de experiencia en esta área (1). Su diagnóstico es particularmente complejo debido a la gran variedad de patrones morfológicos y a la similitud que algunos de estos tumores presentan con lesiones benignas o reactivas. Esto aumenta el riesgo de confusión entre entidades benignas y malignas más que en otras ramas de la patología.

Además, los sarcomas no solo pueden ser confundidos con lesiones benignas o reactivas, sino que, debido a su amplio espectro morfológico, pueden asemejarse a neoplasias malignas de otros orígenes, como carcinomas, melanomas o incluso neoplasias hematopoyéticas. Esta similitud es aún mayor cuando los sarcomas presentan fenómenos de indiferenciación o desdiferenciación.

Diversos estudios han demostrado que el porcentaje de errores diagnósticos en sarcomas cuando el diagnóstico es realizado por patólogos no especializados oscila entre el 30 % y el 40 % de los casos (2). Más preocupante aún es que aproximadamente un 10 % de los diagnósticos erróneos corresponden a la clasificación de tumores benignos, lesiones reactivas, carcinomas, melanomas o neoplasias hematopoyéticas como sarcomas. Esto puede derivar en estrategias terapéuticas radicalmente distintas, con consecuencias significativas tanto en las posibilidades de curación o supervivencia del paciente como en la aparición de efectos secundarios innecesarios.

A continuación, se presentan las principales entidades que pueden ser confundidas con sarcomas, con el propósito de proporcionar herramientas a patólogos de diversas especialidades para minimizar errores diagnósticos.

## PROLIFERACIONES MIOFIBROBLÁSTICAS: FASCITIS NODULAR

La fascitis nodular es una lesión benigna, pseudosarcomatosa, autolimitada, formada por fibroblastos y miofibroblastos. A pesar de que se ha intentado concienciar sobre la existencia de esta entidad en los últimos 30 años en numerosos cursos de formación, está aún entre las lesiones mesenquimales benignas más frecuentes de difícil diagnóstico para el patólogo general y que más frecuentemente se sobrediagnostican como sarcomas, por su rápido crecimiento característico, alta celularidad y actividad mitótica. Existen variantes morfológicas como la intravascular, la cranial/parostal o la osificante.

### Clínica, epidemiología y macroscopía

Algunos pacientes refieren una masa o nódulo de rápido crecimiento en 1 o 2 semanas. Prácticamente todas las lesiones son solitarias. Aunque ocurren en pacientes de todas las edades, la mayoría se dan en adultos entre los 20 y 40 años, afectando por igual a hombres y mujeres. La fascitis nodular puede darse en cualquier parte del cuerpo pero hay una predilección por algunas zonas, las más comunes las extremidades superiores, sobretodo la parte volar del antebrazo, seguido del tronco, especialmente la pared torácica y la espalda. El siguiente sitio en frecuencia es la cabeza y cuello, y es el lugar más frecuente en bebés y niños. El aspecto macroscópico varía en función de las cantidades de estroma fibroso y mixoide y de la celularidad de la lesión. La mayoría son lesiones no encapsuladas y relativamente bien circunscritas, aunque algunas, sobretodo las centradas en la fascia profunda, están mal delimitadas y parece que infiltran los tejidos blandos subyacentes. Suelen medir 2-3 cm. o menos en su mayor dimensión cuando se extirpan (3). Aunque en ocasiones pueden alcanzar los 10 cm., el diagnóstico de fascitis nodular debe hacerse con precaución en estos casos. A pesar de que la extravasación hemática es un hallazgo microscópico frecuente, estas lesiones son raramente hemorrágicas macroscópicamente.

### Hallazgos histológicos

Desde el punto de vista microscópico, la fascitis nodular se puede agrupar en 3 subtipos principales, según su relación con la fascia. El subcutáneo, la forma más común de fascitis nodular, es un nódulo esférico bien circunscrito adherido a la fascia que crece hacia el tejido celular subcutáneo. El tipo intramuscular está adherido superficialmente a la fascia, crece como una masa ovoide intramuscular y es a menudo mayor que el tipo subcutáneo. El tipo fascial, que se centra a lo largo de la fascia, es menos circunscrito que otros tipos, creciendo a lo largo de los tractos interlobulares del tejido celular subcutáneo, dando lugar a un patrón estrellado. Hay casos raros de fascitis nodular que se originan en la dermis (4).

Todos los tipos de fascitis nodular, están formados por fibroblastos y miofibroblastos monomorfos, «activados», inmaduros, que se parecen a los fibroblastos que se ven en el tejido de granulación, que se disponen en fascículos largos en forma de C o S. En general, las células varían poco en forma y tamaño y tienen citoplasma eosinófilo y un núcleo débilmente teñido, oval, vesiculoso y elongado, con nucléolo pequeño y prominente, sin pleomorfismo ni hipercromasia. Las figuras mitóticas son bastante comunes, pero no deben verse mitosis atípicas. Característicamente, las células están acompañadas por pequeñas cantidades de un colágeno maduro birrefrigente. La matriz subyacente es rica en mucopolisacáridos que se tiñen fácilmente con azul alcián y se depolimerizan con la hialuronidasa. Según la cantidad de material mixoide intersticial, la lesión es más o menos celular. Entremezcladas con las células fusocelulares hay escasos linfocitos y eritrocitos y, en la zona más central de la lesión, un pequeño número de macrófagos lipídicos y células gigantes multinucleadas. Ocasionalmente, hay áreas de microhemorragia, siendo la extravasación hemática un hallazgo muy característico, pero son raros los hemosiderófagos.

Hay una relación estrecha entre la imagen histológica y la duración prequirúrgica de la lesión. Las lesiones de corta duración tienden a tener una apariencia mixoide predominante, mientras que las de

mayor duración tienen una fibrosis hialina, contracción del tejido y formación de pequeños espacios fluidos o microquistes, una secuencia similar a la cicatrización del tejido de granulación. En casos de larga duración, los microquistes a veces se unen y forman un espacio quístico central grande (fascitis quística nodular).

**Inmunohistoquímica**

Desde el punto de vista inmunohistoquímico, las células de la fascitis nodular son positivas para actina de músculo liso (AML), actina músculo específica (AME), y calponina y negativas para h-caldesmon, β-catenina, CD34, queratinas o S100. La positividad de desmina es ocasional, aunque normalmente focal.

**Diagnóstico Diferencial**

Entidades que podrían entrar en el diagnóstico diferencial incluyen la miositis/fascitis proliferativa, el fibroma del tendón, el fibroblastoma desmoplásico, la fibromatosis desmoide, el sarcoma fusocelular indiferenciado o el mixofibrosarcoma.

**Diagnóstico molecular**

No es necesario en casos clínica e histológicamente típicos. Sin embargo, en casos que suponen un reto diagnóstico la determinación del reordenamiento de USP6 mediante FISH o por técnicas de secuenciación de nueva generación se pueden usar para confirmar el diagnóstico.

**¿Cuándo sospecharlo?**

Este diagnóstico debemos sospecharlo ante una lesión fibroblástica/miofibroblástica de crecimiento rápido en pacientes jóvenes (20-40 años), con poca atipia y/o pleomorfismo pero con muchas mitosis, si bien no atípicas, con extravasación hemática y con zonas variables mixoides y colágenas, según la duración de la lesión. Positividad difusa para actina de músculo liso, y negatividad para desmina y h-caldesmon.

**Criterios esenciales**

Para establecer este diagnóstico es esencial encontrar una proliferación miofibroblástica celular, citológicamente anodina, con un patrón de fascículos largos en forma de C o S, con estroma variablemente mixoide/colágeno con espacios microquísticos y extravasación hemática. Es importante la ausencia de hipercromasia o figuras de mitosis atípicas.

**Criterios deseables/¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

La determinación molecular de USP6 puede ser útil en casos de localizaciones infrecuentes o que el contexto clínico no sea el esperable.

## PROLIFERACIONES MIOFIBROBLÁSTICAS: FASCITIS PROLIFERATIVA

La fascitis proliferativa es la contrapartida subcutánea de la miositis proliferativa. Ambas lesiones son pseudosarcomatosas, miofibroblásticas, y caracterizadas por la presencia de miofibroblastos inusuales tipo ganglion –like. La apariencia microscópica de la lesión, de ahí que entre en el grupo de las lesiones pseudosarcomatosas, puede sugerir un sarcoma y muchos casos de este tipo se han diagnosticado en pasado como rabdiomiosarcoma embrionario, ganglioneuroblastoma o algún otro tipo de neoplasia maligna.

### Clínica, epidemiología y macroscopía

Entidad típica de adultos entre los 40 y los 70 años y relativamente infrecuente en pacientes más jóvenes de los 15 años (5). No hay predilección por sexo ni raza y la mayoría de las lesiones ocurren en el tejido celular subcutáneo de las extremidades, sobre todo las superiores (especialmente el antebrazo). También ocurre con cierta frecuencia en el tronco y raramente en la cabeza y el cuello. (6). La mayoría de los pacientes se presentan con un nódulo subcutáneo palpable, firme, que se mueve fácilmente y no se fija a la piel suprayacente, aunque aproximadamente 2/3 de los pacientes se quejan de dolor o tirantez. La mayoría de las lesiones miden menos de 5 cm. de diámetro. Igual que ocurre con la fascitis nodular, estas lesiones son de rápido crecimiento y la mayoría se extirpan entre 2 y 6 semanas después de su descubrimiento inicial. En un 1/3 de los casos se describe un trauma en la proximidad de la masa. La fascitis proliferativa suele ser pobremente circunscrita. Raramente puede afectar el tejido muscular superficial, haciendo difícil distinguirlo de la miositis proliferativa. Los casos en la infancia suelen ser más circunscritos y vagamente lobulares, con solo extensión ocasional a lo largo de la fascia.

### Hallazgos histológicos

Como la fascitis nodular, la fascitis proliferativa está formada por células fusocelulares fibroblásticas y miofibroblásticas citológicamente anodinas en un estroma mixoide y colágeno variable (5,6). Esta proliferación se extiende a lo largo de los septos interlobulares del tejido celular subcutáneo, con algo de extensión a lo largo de la fascia superficial. Se caracteriza por la presencia de células «ganglion-like» basofílicas, grandes, con uno o dos núcleos vesiculares y un nucléolo prominente. Tienen un citoplasma ligeramente granular, abundante, pero no tienen las estriaciones típicas de los rabdomioblastos. Estas células ganglion-like pueden estar dispuestas juntas o en agregados dispersos. Curiosamente, las lesiones pediátricas tienden a ser más celulares, tienen más mitosis y focos de inflamación aguda y necrosis, características claramente inusuales en la forma adulta típica. Los casos pediátricos también suelen tener menos colágeno y una matriz mixoide menos prominente que en pacientes adultos. Algunas lesiones, sobre todo aquellas que están presentes mucho tiempo antes de la escisión, pueden tener abundante colágeno hialinizado que rodea a las células «ganglion-like», generando confusión con osteoide neoplásico y pueden ocasionar un mal diagnóstico de osteosarcoma.

### Inmunohistoquímica

Los hallazgos de la fascitis proliferativa son similares a los de la fascitis nodular. Las «células ganglion-like» también pueden ser positivas para actina, aunque la tinción es a menudo focal y débil y puede ser membranosa. Algunas células son positivas para CD68. La expresión de SMARCB1 (INI-1) se mantiene, un hallazgo importante en lesiones pediátricas muy densamente celulares donde el diagnóstico diferencial incluye el sarcoma epitelioide de tipo proximal o el tumor rabdoide maligno.

### ¿Cuándo sospecharlo?

Este diagnóstico debemos sospecharlo ante una lesión en el antebrazo, extremidades superiores o tronco, de rápido crecimiento, en pacientes más mayores que la fascitis nodular, subcutánea o fascial

con células de tipo «ganglion-like» entremezcladas con células fusocelulares fibroblasticas/miofibroblásticas en una matriz mixoide o laxa o colágena.

**Criterios esenciales**

Para establecer este diagnóstico es esencial encontrar una proliferación miofibroblástica /fibroblástica con células tipo «ganglion-like» en un estroma colágeno o mixoide variable, sin mitosis atípicas.

**Criterios deseables/¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

No hay ninguna determinación molecular útil para el diagnóstico.

## PROLIFERACIONES MIOFIBROBLÁSTICAS: MIOSITIS PROLIFERATIVA

La miositis proliferativa es la contrapartida intramuscular de la fascitis proliferativa. Igual que la fascitis proliferativa, la miositis proliferativa es una lesión de crecimiento rápido que infiltra el tejido muscular de manera difusa y se caracteriza por células gigantes multinucleadas bizarras que se parecen mucho a las células ganglionares.

**Clínica, epidemiología y macroscopía**

Los síntomas son inespecíficos y el diagnóstico es puramente histológico. En la mayoría de los casos, el paciente se nota una masa nodular solitaria, palpable, que mide entre 1 y 6 cm de diámetro. Raramente causa sensibilidad o dolor, si bien puede doblar su tamaño en pocos días. La duración entre el comienzo de los síntomas y la escisión de la lesión suele ser de menos de 3 semanas.

Los pacientes suelen ser mayores que aquellos con fascitis nodular, con una edad media de 50 años (7), aunque se han descrito casos raros en niños. No hay predilección por género ni raza. La lesión afecta fundamentalmente los músculos planos del tronco y la cintura escapular, sobretodo el pectoral, dorsal ancho y el serrado anterior.

Igual que la fascitis proliferativa, la miositis proliferativa normalmente es de coloración gris claro, tipo cicatriz, dando lugar a una induración del tejido muscular afectado.

**Hallazgos histológicos**

La celularidad de la miositis proliferativa es idéntica a la de la fascitis proliferativa. Se observa una proliferación pobremente demarcada de células fibroblásticas que envuelven el epimisio, el perimisio y el endomisio. Las fibras de músculo esquelético no están muy afectadas a excepción de la presencia de atrofia secundaria. Esta alternancia de tejido fibroso proliferativo con fibras de músculo esquelético atrófico persistentes dan un aspecto de «tablero de ajedrez» a bajo aumento. La otra característica histológica llamativa de la fascitis proliferativa es la presencia de células ganglion-like grandes, basofílicas, idénticas a las que se encuentran en la fascitis proliferativa. Se ven a menudo figuras de mitosis fácilmente identificables tanto en las células fusocelulares como en las células gigantes, aunque no se ven mitosis atípicas. Los hallazgos inmunohistoquímicos y también los ultraestructurales de la miositis proliferativa son idénticos a los de la fascitis proliferativa (8).

**Diagnóstico diferencial de la fascitis y la miositis proliferativa**

Estas dos entidades pueden confundirse con una variedad de neoplasias malignas, sobretodo el rabdomiosarcoma y el ganglioneuroblastoma. Se producen errores diagnósticos más frecuentemente en casos en niños, donde el rabdomiosarcoma, el sarcoma epitelioide y el tumor maligno extrarrenal rabdoide son diagnósticos a tener muy en cuenta. Histológicamente, las células «ganglion-like» no tienen estriaciones y muestran mucha más basofilia citoplasmática que la que se ve en los rabdomioblastos. Aunque los perfiles inmunohistoquímicos se pueden solapar, la negatividad para desmina, MyoD1 y miogenina en las células «ganglion-like» resulta de gran ayuda en el diagnóstico. La ausencia de positividad para queratina o la expresión retenida de SMARCB1 (INI-1) excluye el sarcoma epitelioide o el tumor maligno rabdoide extrarrenal.

**¿Cuándo sospecharlo?**

Este diagnóstico debemos sospecharlo ante una lesión en el tronco, cintura escapular, extremidades superiores o muslos, de rápido crecimiento, en pacientes mayores que aquellos que tienen fascitis nodular intramuscular, con células de tipo «ganglion-like» entremezcladas con células fusocelulares fibroblasticas/miofibroblásticas en una matriz mixoide o laxa o colágena.

**Criterios esenciales**

Para establecer este diagnóstico es esencial encontrar una proliferación miofibroblástica /fibroblástica intramuscular con el patrón típico en «tablero de ajedrez», así como la presencia de células «ganglion-like» grandes, basofílicas, idénticas a las que se encuentran en la fascitis proliferativa, sin mitosis atípicas.

**Criterios deseables/¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

No hay ninguna determinación molecular útil para el diagnóstico.

**PROLIFERACIONES MIOFIBROBLÁSTICAS: FASCITIS ISQUÉMICA**

Sinónimo de fibroplasia decubital atípica, la fascitis isquémica es una lesión fibroblástica/miofibroblástica pseudosarcomatosa, que contiene células «ganglion-like» grandes y zonas hipocelulares con degeneración fibrinoide, que afecta fundamentalmente tejidos blandos por encima de protuberancias óseas.

**Clínica, epidemiología y macroscopía**

Afecta fundamentalmente a pacientes mayores, físicamente limitados o inmovilizados (1). El pico de incidencia son los 80-90 años, aunque se ha descrito en adolescentes. La mayoría de los pacientes presentan una masa no dolorosa de corta duración, normalmente de menos de 6 meses. El sitio de presentación más frecuente es la región de los hombros, seguido por los tejidos blandos de la pared torácica por encima de las costillas y aquellos que cubren la región sacrococcígea o el trocánter mayor.

Macroscópicamente, tiende a ser una lesión pobremente circunscrita y vagamente multinodular, a menudo de apariencia mixoide; el tamaño oscila entre 1-10 cm., con una media de 5 cm. Típicamente, afecta el tejido celular subcutáneo pero puede afectar la dermis, con ulceración infrecuente de la epidermis. Además, esta proliferación puede afectar el músculo esquelético subyacente o el periostio adyacente.

**Hallazgos histológicos**

Microscópicamente, la fascitis isquémica tiene un patrón zonal distintivo, que se aprecia mejor a bajo aumento, a menudo con una zona central de necrosis licuefactiva o focalmente coagulativa, rodeada por una una franja de vasos proliferantes, fibroblastos y miofibroblastos. Los vasos de la periferia son a menudo pequeños, delgados y ectáticos; y están revestidos por células endoteliales prominentes, ocasionalmente atípicas. Además, una proliferación de células más grandes forma grupos perivasculares o surgen imperceptiblemente de los vasos periféricos; estas células pueden tener atipia citológica, con núcleos grandes, excéntricos e hipercromáticos, con nucléolo prominente y citoplasma abundante basófilo. Algunas se parecen a las células «ganglion-like» de la fascitis y miositis proliferativa. Normalmente es hipocelular y aunque se pueden observar figuras mitóticas, no son atípicas. Los vasos periféricos pueden contener trombos de fibrina e inflamación aguda secundaria con hialinización perivascular. Se pueden ver mucífagos multivacuolados en las zonas mixoides (pseudolipoblastos) que pueden recordar y confundir con los lipoblastos del liposarcoma mixoide (9).

**Inmunohistoquímica**

Las células atípicas «fibroblasto-like» suelen teñir con actina de músculo liso, desmina, o ambos marcadores. S100 y las citoqueratinas son negativas.

**Diagnóstico diferencial**

En más de un tercio de los casos descritos de fascitis isquémica, se planteó un diagnóstico de malignidad, como sarcoma epitelioide, liposarcoma mixoide o mixofibrosarcoma.

Aunque el aspecto multinodular con necrosis central recuerda al sarcoma epitelioide, este diagnóstico ocurre típicamente en las extremidades distales de pacientes jóvenes y está formado por células con citoplasma prominente y eosinófilo con inmunoreactividad para queratinas y pérdida de SMARCB1 (INI-1).

El liposarcoma mixoide también entra en el diagnóstico diferencial pero la fascitis isquémica no tiene la vasculatura organizada plexiforme típica del liposarcoma mixoide. Además, aunque se pueden ver mucífagos multivacuolados, no se observan lipoblastos atípicos.

El mixofibrosarcoma es otro diagnóstico diferencial pero no tiene la zonación de la fascitis isquémica y los cambios degenerativos y reactivos de la misma, como células con cromatina grumosa, necrosis grasa, depósitos de hemosiderina o trombos de fibrina.

**¿Cuándo sospecharlo?**

Este diagnóstico debemos sospecharlo cuando estemos ante una lesión con celularidad fibroblástica/miofibroblástica, en pacientes mayores inmovilizados o tejidos sometidos a isquemia por otros motivos y en la que veamos un patrón de zonación con necrosis o degeneración fibrinoide central.

**Criterios esenciales**

Lesión en el tejido celular subcutáneo profundo con un patrón de zonación, con degeneración central fibrinoide, necrosis o cambios quísticos. Se observa también un componente vascular en la periferia tipo tejido de granulación y entremezcladas células «ganglion-like».

**Criterios deseables/¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

No hay ninguna determinación molecular útil para el diagnóstico.

## PROLIFERACIONES MIOFIBROBLÁSTICAS: MIOSITIS OSIFICANTE

La miositis osificante es un proceso osificante benigno, que normalmente es solitario y bien circunscrito. Se encuentra a menudo en la musculatura pero puede ocurrir también en otros tejidos, incluyendo tendones y grasa subcutánea (a veces se le conoce como paniculitis subcutánea). El término miositis osificante es un nombre poco apropiado, porque no siempre aparece en el músculo y si hay inflamación esta es mínima, y fundamentalmente evidente en los tejidos que rodean la lesión, si bien es el término ampliamente utilizado.

### Hallazgos clínicos, epidemiológicos, radiológicos y macroscópicos

El síntoma inicial suele ser a las horas o días después de un daño o trauma, consistente en dolor o aumento de la sensibilidad, seguido de una masa de partes blandas, difusa. A la segunda o tercera semana, la lesión se delimita mejor y se hace más dura. Gradualmente se hace muy bien perfilada y firme o muy dura a la palpación.

Suele afectar sobre todo, si bien no exclusivamente, a adolescentes y adultos jóvenes y muy activos (10), fundamentalmente varones y es muy rara en niños pequeños. En un 80 % de los casos la lesión afecta las extremidades, con más frecuencia las inferiores. Lesiones debidas a un traumatismo se han descrito también en la cabeza y el cuello. Las lesiones profundas pueden afectar tanto el músculo como el periostio subyacente.

La apariencia por pruebas de imagen (radiología, TAC y RMN) es bastante característica y a menudo permite el diagnóstico correcto (11).

Macroscópicamente, la mayoría de las lesiones miden entre 3 y 6 cm. Suelen ser bien circunscritas y al corte arenosas. Son blancas, suaves y bastante gelatinosas (o hemorrágicas) en el centro y amarillas o grises con una superficie rugosa o granular en la periféria. Estos hallazgos se correlacionan con el patrón zonal que se ve al microscopio.

### Hallazgos histológicos

El patrón histológico es claro y refleja diferentes grados de maduración celular. Este patrón es más evidente en lesiones de 3 semanas o más. En estos casos, la parte interna de la lesión está formada por un tejido fibroblástico/miofibroblástico a menudo ricamente vascularizado, inmaduro, que se parece mucho a la fascitis nodular o al tejido de granulación. Esta proliferación fibroblástica muestra un grado leve de pleomorfismo (pero no hipercromasia) y una actividad mitótica prominente, entremezclados con macrófagos, células inflamatorias crónicas, material fibrinoide y, a veces, células gigantes multinucleadas. Además, puede haber proliferación endotelial prominente, hemorragia focal, fibrina, y fibras musculares atrapadas atróficas o necróticas. En la periferia de estas áreas está la zona intermedia en la que las células se condensan en trabéculas pobremente definidas que consisten en una mezcla de fibroblastos y osteoblastos, así como cantidades variables de osteoide, que está separado por canales vasculares ectáticos y de paredes finas. En la zona más externa, el osteoide progresivamente se calcifica y se convierte en hueso lamelar maduro. Se pueden ver islotes de cartílago maduro o inmaduro que preceden la formación de hueso. Característicamente, la formación de hueso es más prominente en los márgenes de la lesión, con osteoide revestido por una monocapa de osteoblastos sin variación en tamaño y forma. El hueso está separado del tejido muscular que lo rodea por una zona de tejido fibroso mixoide, laxo. Este músculo a menudo muestra cambios atróficos, a veces junto un infiltrado inflamatorio moderado. Lesiones más antiguas a menudo consisten solo en hueso lamelar maduro

entremezclado con células adipocíticas, tejido fibroso y canales vasculares finos indistinguibles del osteoma.

**Transformación maligna de la miositis osificante**

Se han descrito muy pocos casos de transformación maligna de la miositis osificante realmente convincentes. Sin embargo, algunos casos en la literatura describen la transformación de la miositis osificante en osteosarcoma extraesquelético (12). En la mayoría de estos casos, la presencia de miositis osificante está mal documentada y en solo unos pocos el diagnóstico se confirma con biopsia. En algunos de los casos reportados, la larga duración y la desdiferenciación de un osteosarcoma bien diferenciado puede haber simulado el origen en la miositis osificante. Dicho todo esto, y siendo prácticos, la miositis osificante es una lesión pseudosarcomatosa benigna y debe ser tratada como tal.

**Inmunohistoquímica y hallazgos moleculares**

La inmunohistoquímica es de muy poca ayuda en el diagnóstico. Desde el punto de vista molecular, se han descrito reordenamiento de USP6 en la mayor parte de los casos de miositis osificante, como en el quiste óseo aneurismático o la fascitis nodular (13)

**Diagnóstico diferencial**

La distinción de la miositis osificante de la fascitis nodular o otras proliferaciones miofibroblásticas reactivas se basa sólo en la identificación de la matriz osteosartilaginosa.

El diagnóstico diferencial principal y de mayor importancia es el osteosarcoma extraesquelético.

Este último diagnóstico se distingue de la miositis osificante por su presentación en pacientes mayores, tener mayor tamaño, atipia citológica y pleomorfismo, figuras de mitosis atípicas y necrosis, así como por tener un patrón de zonación «inverso» a la miositis osificante, con las zonas menos maduras en la periferia. Otras entidades que entrarían en el diagnóstico diferencial son el carcinosarcoma, melanoma y mesoteliomas con elementos heterólogos sarcomatosos, pero éstas tienen mucha más atipia citológica. En casos seleccionados, ayudan marcadores inmunohistoquímicos epiteliales, melánicos o mesoteliales.

**¿Cuándo sospecharlo?**

Debe sospecharse ante una lesión en las extremidades inferiores en un paciente joven muy activo que haya sufrido algún trauma, en el músculo o en la grasa subcutánea. Se caracteriza por una lesión con zonación característica en la que se identifica una proliferación (mio)fibroblástica central rodeada de hueso neoformado y más maduro hacia la periferia.

**Criterios esenciales**

Fascículos hipercelulares de células fusocelulares uniformes, entremezclados con hueso neoformado con un patrón de zonación, más maduro hacia la periferia.

**Criterios deseables/¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

La determinación del reordenamiento de USP6 puede ser de ayuda en casos seleccionados en los que no tenemos herramientas morfológicas para descartar el osteosarcoma extraesquelético con certeza. Sin embargo, cabe destacar que USP6 también lo encontraremos reordenado en la fascitis

nodular y el quíste óseo aneurismático, así que debemos tener en cuenta el contexto clínico-patológico adecuado para descartar estas entidades.

## PROLIFERACIONES MIOFIBROBLÁSTICAS: NÓDULO DEL CICLISTA

El nódulo del ciclista, también conocido como la induración nodular perineal del ciclista, «higroma» isquiático, «tercer testículo» o «testículos accesorios» de los ciclistas. Es una entidad bien conocida por los médicos del deporte y por los propios ciclistas profesionales o aficionados, pero casi desconocida para el resto de médicos.

### Clínica y epidemiología

Suele presentarse como dos nódulos, uno a cada lado del rafe, aunque ocasionalmente se presenta como uno único («tercer testículo») inmediatamente posterior al escroto, cerca de la tuberosidad isquiática. La piel que lo recubre es en apariencia normal y su tamaño suele oscilar entre 2 y 3 cm. A la palpación muestra una consistencia fibroelástica, pudiendo evidenciarse adherencias al tejido conectivo adyacente (14).

### Hallazgos histológicos

Se caracteriza por una lesión tumoral de bordes mal definidos, formada por una formación «pseudoquística central», multilocular, de contenido fibrinoso, sin celularidad epitelial o sinovial que la delimite, con áreas circundantes de necrosis aséptica. La lesión se forma en el tejido conectivo de la fascia perineal superficial. El tejido llega a estar homogeneizado y pierde su estructura fibrilar, observándose una proliferación fibrosa con presencia de células fusiformes sin atipia, áreas hemorrágicas, focos de degeneración mixoide y, ocasionalmente, grupos de adipocitos maduros atrapados, así como diapédesis de eritrocitos y un leve infiltrado inflamatorio reactivo.

### Inmunohisquímica

Las células fusiformes son positivas para factor XIII y negativas para receptores de estrógenos, receptores de progesterona, S-100, CD34, actina y desmina. El índice de proliferación medido por Ki67 es nulo.

### Diagnóstico diferencial

El diagnóstico diferencial deberá establecerse con otros procesos comunes y banales como quistes o lipomas y con otros más infrecuentes e importantes como el angiomixoma agresivo, ya que esta entidad tiene capacidad para infiltrar focalmente y se asocia con un alto riesgo de recidiva local después de la extirpación, pero no tiene potencial metastásico. Afecta generalmente a mujeres jóvenes y se origina en los tejidos blandos de la pelvis y el periné.

### ¿Cuándo sospecharlo?

Ante lesiones de pequeño tamaño y de largo tiempo de evolución, en el isquion de ciclistas, que se presenta histológicamente como una lesión «pseudoquística central» con cambios de necrosis aséptica.

**Criterios esenciales**

Lesión pseudoquística central, con necrosis aséptica y sin atipia, en el isquion de pacientes ciclistas.

**Criterios deseables/¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

No hay ninguna determinación molecular útil para el diagnóstico.

## PROLIFERACIONES MIOFIBROBLÁSTICAS: CAMBIOS CICATRICIALES / INFLAMATORIOS / REACTIVOS

Las lesiones inflamatorias, reactivas o cicatriciales son procesos benignos que pueden simular neoplasias malignas, especialmente sarcomas, debido a ciertas características histológicas.

El tejido de granulación está constituido por (mio)fibroblastos activados, que son células de tamaño aumentado y núcleos fusiformes, que además pueden presentar actividad mitótica. Para no confundir estos hallazgos con un proceso neoplásico nos podemos fijar en que se trata de una proliferación hipocelular, en la que los fibroblastos se encuentran en un estroma mixoide o edematoso con bastante separación entre ellos y acompañados de abundantes vasos sanguíneos de pequeño tamaño, así como de celularidad inflamatoria. Con el paso del tiempo el tejido de granulación evoluciona hacia un proceso cicatricial. En este caso, los fibroblastos adquieren una morfología más fusada y un citoplasma anfófilo y se disponen de una manera más organizada en un estroma colágeno. En una cicatriz hipertrófica o queloide se observan bandas gruesas de colágeno eosinófilo entre las células. En tejidos que han sido expuestos a radiación los fibroblastos pueden mostrar rasgos sospechosos de malignidad, como un mayor pleomorfismo o hipercromatismo celular. De nuevo es útil para diferenciarlo de un proceso maligno que se trata de una proliferación escasamente celular y se acompaña de otros hallazgos como esclerosis estromal, dilatación de estructuras vasculares acompañantes, hemorragia, fibrina y depósitos de hemosiderina. De forma similar, en la estasis venosa (presente típicamente en extremidades inferiores en personas de edad avanzada) se puede observar hemorragia, hemosiderina o fibrosis estromal en relación a una proliferación de configuración lobulada de capilares de paredes engrosadas, que en caso de ser muy prominente se pueden confundir con un sarcoma de Kaposi. Para diferenciar un pseudosarcoma de Kaposi debemos fijarnos en las células fusiformes perivasculares, que al contrario que en el sarcoma verdadero, son de estirpe fibroblástica y no endoteliales y muestran rasgos citológicos similares a los descritos anteriormente. A nivel inmunohistoquímico se pueden diferenciar porque no expresan los marcadores vasculares esperables (ERG, CD34) ni el patrón característico nuclear granular de HHV8. Sin embargo, hay que tener en cuenta que frecuentemente el sarcoma de Kaposi es negativo para CD31. (15) Otro proceso que puede hacer sospechar malignidad es la atrofia del músculo esquelético. Secundariamente a procesos inflamatorios, reactivos o neoplásicos, el músculo puede sufrir un proceso de atrofia, que se traduce en la pérdida de sus proteínas contráctiles, lo que su vez lleva a una disminución del citoplasma de la célula y al amontonamiento de los núcleos periféricos. Estos núcleos amontonados pueden simular histiocitos multinucleados o incluso células pleomórficas malignas. Una pista fundamental para evitar el error, tanto en este caso como en los anteriores, es fijarse siempre en el tejido adyacente, que en muchos casos ayuda a despejar la duda. (16)

En lesiones inflamatorias y cicatriciales, los hallazgos moleculares suelen ser inespecíficos. Las pruebas moleculares son esenciales cuando las características histológicas e inmunohistoquímicas son ambiguas, particularmente para excluir sarcomas con alteraciones genéticas específicas.

**¿Cuándo sospecharlo?**

Lesiones miofibroblásticas con gran cantidad de matriz colágena en áreas donde hay una posible lesión preexistente, más frecuente en piel o tejido subcutáneo.

**Criterios esenciales**

Lesiones miofibroblásticas con gran cantidad de matriz colágena en áreas donde hay una posible lesión preexistente.

**Criterios deseables**

Presencia de celularidad inflamatoria, vasos prominentes en tejido de granulación y ausencia de alteraciones moleculares características de sarcomas.

**Criterios deseables/¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

La confirmación molecular será necesaria excepcionalmente para descartar otros diagnósticos cuando los hallazgos inmunohistoquímicos o histológicos no sean concluyentes y exista sospecha de sarcoma o fibromatosis desmoide.

## PROLIFERACIONES MIOFIBROBLÁSTICAS: PSEUDOTUMOR POR MICOBACTERIAS

El pseudotumor por micobacterias es una lesión histiocítica de etiología reactiva que ocurre como respuesta a una infección por micobacterias.

**Clínica y epidemiología**

Es una entidad rara que afecta principalmente a pacientes inmunocomprometidos, como aquellos con VIH/SIDA, receptores de trasplantes de órganos y pacientes que reciben terapias inmunosupresoras. En la mayoría de los casos, la infección está asociada con Mycobacterium avium intracellulare. Las lesiones pueden localizarse en diversos órganos, siendo los ganglios linfáticos y la piel los sitios más comunes, aunque también pueden observarse en pulmones, bazo, riñón, sistema nervioso central y médula ósea.

**Hallazgos Histológicos**

Proliferación de células histiocíticas de morfología fusiforme con núcleo alargado y citoplasma fino, dispuestas con patrón fascicular o estoriforme. En la mayoría de los casos se identifica inflamación neutrofílica, incluso con formación de microabscesos neutrofílicos, granulomas periféricos e histiocitos espumosos. Además, también puede identificarse un infiltrado inflamatorio mixto que incluye linfocitos, células plasmáticas y, en ocasiones, células gigantes multinucleadas (17).

**Diagnóstico Inmunohistoquímico**

Las células del pseudotumor por micobacterias son positivas para CD68 y CD163, lo que confirma su origen histiocítico. Con Ziehl-Neelsen se pueden identificar los bacilos (17).

**Diagnóstico Diferencial**

El pseudotumor por micobacterias debe diferenciarse de varias entidades mesenquimatosas que presentan características histológicas similares. En el caso del tumor miofibroblástico inflamatorio (IMT), este se caracteriza por la proliferación de miofibroblastos dispuestos en fascículos uniformes, sin microabscesos ni granulomas periféricos. Además, el IMT suele ser positivo para actina de músculo liso y desmina (18).

En la fascitis nodular, la proliferación de miofibroblastos tiene una disposición caótica, mucha heterogenidad, estroma mixoide variable y áreas de extravasación hemática. A diferencia del pseudotumor por micobacterias, no se observan microabscesos neutrofílicos, granulomas periféricos ni histiocitos espumosos (18).

El dermatofibroma presenta una disposición estoriforme y atrapa fibras de colágeno gruesas, que también lo distingue de los pseudotumores por micobacterias. Las variantes profundas de este tumor pueden ser más celulares, pero no presentan el componente xantomatoso, linfocítico ni los neutrófilos que se encuentran en los pseudotumores (18).

El sarcoma de células foliculares dendríticas es una neoplasia rara que generalmente se origina en los ganglios linfáticos. Se caracteriza por una proliferación de células en fusiformes con núcleo ovoide, asociados con un infiltrado linfohistiocítico. El diagnóstico diferencial con el pseudotumor por micobacterias se realiza mediante tinciones inmunohistoquímicas, ya que las células del sarcoma de células foliculares dendríticas son positivas para CD21, CD23 y CD35, mientras que en el pseudotumor las células son positivas para CD68 y CD163 (17).

Finalmente, el sarcoma de Kaposi, que se presenta típicamente en pacientes con VIH/SIDA, produce una proliferación de células fusiformes en los ganglios linfáticos y otros tejidos. La clave para diferenciarlo del pseudotumor por micobacterias radica en que tiene una disposición más organizada de las células con espacios vasculares y no presenta granulomas ni bacilos, mientras que el pseudotumor por micobacterias muestra características inflamatorias claras con granulomas, neutrófilos y presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes. Además, inmunohistoquímicamente, el sarcoma de Kaposi es positivo para marcadores vasculares, mientras que el pseudotumor es negativo para estos marcadores y positivo para CD163 y CD68 (17).

**Aspectos Moleculares**

El diagnóstico molecular del pseudotumor por micobacterias se realiza mediante técnicas como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la secuenciación de ADN. Estas técnicas permiten identificar la especie micobacteriana responsable de la infección. Mycobacterium avium es la especie más comúnmente aislada en estos casos.

**¿Cuándo sospecharlo?**

Pacientes inmunocomprometidos que presenten una proliferación de células fusiformes en localización compatible (ganglionar, cutánea …) acompañada de inflamación neutrofílica, granulomas periféricos e histiocitos espumosos.

**Criterios Esenciales**

Proliferación de células histiocíticas fusiformes, positivas para CD68 y CD163. Identificación de bacilos ácido-alcohol resistentes mediante tinción de Ziehl-Neelsen/PCR.

**Criterios deseables/¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

La confirmación molecular mediante PCR es fundamental para identificar el agente etiológico y confirmar el diagnóstico, siempre que no podamos confirmarlo mediante la tinción de Ziehl-Neelsen.

## PROLIFERACIONES MIOFIBROBLÁSTICAS: PROLIFERACIÓN MIOFIBROBLÁSTICA PSEUDOSARCOMATOSA / NÓDULO VESICAL POSTQUIRÚRGICO

La proliferación miofibroblástica pseudosarcomatosa (PMP) es una lesión reactiva benigna que ha sido descrita bajo múltiples nombres, como pseudotumor inflamatorio, tumor miofibroblástico pseudosarcomatoso, proliferación miofibroblástica pseudosarcomatosa, tumor fibromixoide pseudosarcomatoso, e incluso fascitis nodular (18), lo que ha contribuido a aumentar la confusión sobre esta entidad.

### Características Clínicas y Epidemiológicas

La PMP se presenta comúnmente en el tracto genitourinario, especialmente en la vejiga urinaria, aunque cualquier localización dentro del tracto genitourinario es posible, como por ejemplo la próstata, uretra, uréter y vagina. Hasta en un 25 % de los casos existe antecedente de procedimientos quirúrgicos recientes, apareciendo la lesión típicamente entre las 5 y 12 semanas posteriores al procedimiento (19). Sin embargo, esta lesión puede presentarse de forma espontánea de novo. En el primer caso, cuando la lesión se produce secundariamente a un procedimiento, se denomina nódulo (vesical) postquirúrgico. En el segundo caso, cuando la lesión aparece de novo, tiende a denominarse pseudotumor inflamatorio (18).

### Hallazgos Histológicos

La PMP se caracteriza microscópicamente por una proliferación de células fusiformes a ovoides, con una apariencia similar a un cultivo celular, muy parecida a la que se observa en una fascitis nodular. Estas células muestran patrón cromatínico abierto, nucleolo variable y procesos citoplásmicos estelados o bipolares y no presentan atipia citológica ni hipercromatismo nuclear. Están distribuidas en un estroma mixoide con una red capilar prominente, eritrocitos extravasados y un infiltrado inflamatorio mixto constituido por linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos y mastocitos. Cuando se observan polimorfonucleares neutrófilos normalmente se encuentran en relación a ulceración de la mucosa. En ocasiones se identifican áreas hipercelulares en las que las células se disponen adoptando fascículos cortos separados por colágeno. En cualquier caso, las mitosis son escasas, típicamente menos de 1-2 por 10 campos de gran aumento, y no son atípicas. Frecuentemente en las lesiones que ocurren en la vejiga se pueden identificar áreas de necrosis superficial, infiltración en la capa muscular propia o incluso en el tejido adiposo perivesical, lo que puede generar sospecha de malignidad (20).

### Diagnóstico Inmunohistoquímico

Las células fusiformes de la PMP suelen expresar marcadores de músculo liso, como actina y desmina, y en muchos casos también queratinas como AE1/3, CAM 5.2 y CK18, que puede ser intensa y difusa. Aproximadamente el 57 % de los casos presentan positividad para ALK, y el reordenamiento del gen ALK se puede confirmar mediante FISH en una proporción similar (aproximadamente 72 %, aunque varía según las series). No se han identificado diferencias histológicas significativas entre los casos con o sin alteraciones de ALK (23).

**Diagnóstico Diferencial**

El diagnóstico diferencial incluye (18):

*Leiomiosarcoma:* las células presentan, además de mayor atipia nuclear, citoplasma fibrilar eosinófilo, vacuolas perinucleares frecuentes y ausencia de inflamación prominente. A nivel inmunohistoquímico pueden expresar citoqueratinas, pero no ALK.

*Carcinoma urotelial sarcomatoide:* La positividad encontrada frecuentemente en la PMP para citoqueratinas puede hacer sospechar un carcinoma. Sin embargo, en este último caso suele encontrarse áreas de carcinoma in situ, una atipia citológica marcada y mitosis atípicas. A nivel inmunohistoquímico no expresan ALK.

*Tumor miofibroblástico inflamatorio:* Comparte muchas características histológicas, pero al contrario que la PMP tiende a presentar células de tipo ganglionar, abundancia de células plasmáticas y un estroma más edematoso. Sin embargo, estas dos entidades podrían ser consideradas diferentes formas en el espectro de la misma enfermedad, más que entidades diferentes.

**Aspectos Moleculares**

El papel del reordenamiento del gen ALK en la PMP es controvertido, ya que no está presente en todos los casos. Además, la frecuencia del reordenamiento de ALK varía según las series. Aunque algunos consideran estas lesiones como reactivas, otros argumentan un componente neoplásico basado en la detección de fusiones génicas ALK. Sin embargo, la mayoría de las PMP siguen un curso clínico benigno, independientemente de la presencia de ALK (19).

**¿Cuándo sospecharlo?**

Pacientes con lesiones de células fusiformes en el tracto urinario, en particular la vejiga, y antecedentes de procedimientos quirúrgicos recientes.

**Criterios Esenciales**

Proliferación de células fusiformes en un estroma mixoide con infiltrado inflamatorio mixto. Ausencia de atipia citológica marcada ni mitosis atípicas.

**Criterios Deseables**

Positividad para ALK por inmunohistoquímica.

**¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

Demostración del reordenamiento del gen ALK por FISH en contextos diagnósticos dudosos.

## OTROS TUMORES BENIGNOS DE PARTES BLANDAS QUE PUEDEN PARECERNOS MALIGNOS: SCHWANNOMA

Existen varios subtipos de schwannoma que pueden plantear retos diagnósticos específicos:

*Schwannoma celular:* compuesto predominantemente por áreas Antoni A, con escasos cuerpos de Verocay y actividad mitótica ocasional. Este subtipo es el más difícil de diferenciar de un sarcoma debido a su alta celularidad y a la posible erosión ósea (21).

*Schwannoma plexiforme:* suele presentarse como masas multinodulares, con mayor frecuencia en piel y tejido celular subcutáneo. Puede confundirse con sarcomas de patrón plexiforme.

*Schwannoma neuroblastoma-like:* presenta rosetas colágenas gigantes que pueden confundirse con tumores como el neuroblastoma o el sarcoma fibromixoide de bajo grado.

*Schwannoma epiteloide:* caracterizado por células redondeadas con nucleolos prominentes, que pueden plantear dudas diagnósticas frente a tumores malignos de células epiteliales.

### Diagnóstico diferencial

La presencia de remolinos schwannianos, una cápsula peritumoral, linfocitos subcapsulares, infiltrados ricos en macrófagos y la ausencia de fascículos sugieren schwannoma. En cambio, la hipercelularidad perivascular, la herniación tumoral en lúmenes vasculares y la necrosis sugieren un tumor maligno de la vaina nerviosa periférica. Un aspecto clave para esta distinción radica en la conservación de marcadores inmunohistoquímicos (S-100, SOX10), que ayudan a distinguirlos de entidades malignas como el tumor maligno de vaina de nervio periférico (MPNST), que suele mostrar expresión focal o ausente. Además, los schwannomas muestran una cápsula bien definida y ausencia de necrosis geográfica (18).

La tinción de H3K27me3 es particularmente relevante en el diagnóstico diferencial entre schwannomas celulares y tumores malignos de la vaina nerviosa periférica (MPNST). La pérdida de expresión de H3K27me3 es altamente sugestiva de MPNST y, en combinación con otras tinciones, puede confirmar malignidad en casos complejos (21). Se recomienda su uso en schwannomas celulares con actividad mitótica aumentada y lesiones en localizaciones profundas o retroperitoneales con morfología atípica.

### Aspectos moleculares

En cuanto a la patogénesis, el schwannoma se asocia con mutaciones inactivadoras en el gen supresor de tumores NF2, que lleva a la pérdida de expresión de merlina, su producto proteico. Aunque estas alteraciones son comunes, no son específicas y no se consideran indispensables para el diagnóstico. En casos atípicos, como schwannomas celulares con mitosis aumentadas o morfología inusual, la confirmación molecular puede ser útil para excluir malignidad (18).

### ¿Cuándo sospecharlo?

Masas fusocelulares, encapsuladas, de crecimiento lento y relacionadas con estructuras nerviosas. En algunos casos se pueden ver cambios degenerativos, hipercelularidad o cierta atipia.

### Criterios esenciales

Cápsula bien definida, zonas Antoni A y B; positividad inmunohistoquímica para S-100 y/o SOX10.

### Criterios Deseables

Ausencia de proliferación celular significativa (Ki-67 <20 %) y necrosis. Expresión conservada de H3K27me3.

### ¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?

Excepcionalmente, en casos de Schwannomas celulares en los que es difícil descartar malignid

## OTROS TUMORES BENIGNOS DE PARTES BLANDAS QUE PUEDEN PARECERNOS MALIGNOS: LIPOMA DE CÉLULAS FUSIFORMES Y LIPOMA PLEOMÓRFICO

El lipoma de células fusiformes (LCF) y el lipoma pleomórfico (LP) constituyen un espectro morfológico de un mismo tumor benigno de estirpe adiposa. Estas entidades pueden confundirse con neoplasias malignas, como el liposarcoma.

### Características clínicas y epidemiológicas

Se presentan como nódulos subcutáneos, indoloros y de crecimiento lento, habitualmente en hombres de 45 a 60 años. La localización típica es la región posterior del cuello, hombros y espalda (80 % de los casos) aunque pueden surgir en otras áreas, como la cavidad oral (18).

### Hallazgos histológicos

El LCF está compuesto por adipocitos maduros, células fusiformes blandas y colágeno grueso, mientras que el LP también presenta células gigantes pleomórficas con núcleos dispuestos en forma de pétalos de flor. Otros rasgos destacables incluyen una matriz fibromixoide, mastocitos, lipoblastos (hasta en 50 % de los casos) y vasos sanguíneos de pared gruesa, que en ocasiones adoptan un patrón hemangiopericitoide (22).

El LCF/LP presenta varias variantes histológicas que pueden generar confusión diagnóstica (18):

*LCF Pobre en Tejido Adiposo:* Este subtipo contiene escasa o nula proporción de tejido adiposo, lo que puede dificultar su diferenciación de otros tumores fibroblásticos o mixoides.

*Subtipo Mixoide:* Caracterizado por una matriz mixoide prominente que puede simular un liposarcoma mixoide. Sin embargo, la presencia de células fusiformes blandas, colágeno grueso y ausencia de atipia celular ayuda en su diagnóstico.

*Subtipo Pseudoangiomatoide:* Este tipo presenta espacios similares a vasos que pueden confundirse con patrones vasculares. Estos espacios están rodeados por células fusiformes y colágeno.

*Subtipo Plexiforme:* Se caracteriza por una arquitectura nodular con múltiples lóbulos separados por septos fibrosos.

*Metaplasia Cartilaginosa u Ósea:* Algunos casos raros presentan focos de cartílago o hueso metaplásico en su interior, lo que puede generar diagnósticos erróneos de osteosarcoma o condrosarcoma.

*LCF con Hematopoyesis Extramedular:* Aunque extremadamente raro, algunos casos muestran focos de hematopoyesis extramedular.

**Diagnóstico inmunohistoquímico**

El LCF/LP es positivo para CD34, con pérdida de expresión de *RB1*. La inmunohistoquímica para MDM2 y CDK4, positiva en liposarcomas, es negativa en LCF/LP, y constituye un criterio diferencial esencial (18).

**Diagnóstico diferencial**

El diagnóstico diferencial del LCF/LP incluye las siguientes entidades (22):

*Dermatofibrosarcoma protuberans (DFSP):* Aunque también es CD34 positivo, el DFSP se origina en la dermis, tiene un patrón de crecimiento estoriforme infiltrante en el tejido celular subcutáneo y carece del colágeno grueso característico del LCF/LP.

*Fascitis nodular:* Lesión reactiva con proliferación rápida de células fibroblásticas dispuestas en un patrón desordenado, «en cultivo» y morfológicamente heterogénea. Es positiva para SMA y negativa para CD34.

*Schwannoma:* comparten hallazgos histológicos como la presencia de mastocitos o las empalizadas nucleares. Sin embargo, el schwannoma se distingue por sus áreas Antoni A y B, positividad para S-100 y SOX10, y la ausencia de colágeno grueso y adipocitos del LCF/LP. Además, las células suelen ser de una morfología más serpinginosa u ondulada.

*Angiomiofibroblastoma:* Tumor superficial con localización en la región genital, típicamente en la vulva, que muestra hallazgos histológicos prácticamente superponibles a los del LCF/LP, con la diferencia de que el angiomiofibroblastoma presenta una vascularización prominente con vasos uniformemente distribuidos. En muchos casos la distinción entre ambas entidades es arbitraria y carece de relevancia clínica.

*Tumor fibroso solitario:* También CD34 positivo, pero con expresión conservada de *RB1* y positividad para STAT6.

*Liposarcoma bien diferenciado:* Presenta mayor atipia, un mayor número de lipoblastos, y positividad para MDM2/CDK4 inmunohistoquímica o demostración de la amplificación mediante FISH.

**Aspectos moleculares**

El LCF/LP está asociado a pérdidas parciales o completas de los cromosomas 13q y 16q, con deleciones específicas en 13q14 que afectan el gen *RB1*. La pérdida de expresión de la proteína Rb es un hallazgo inmunohistoquímico característico y constituye un elemento clave en su diferenciación con el liposarcoma (18).

**¿Cuándo sospecharlo?**

Lesiones subcutáneas encapsuladas, indoloras, de crecimiento lento, con predilección por hombres de 45-60 años y localización típica en la región posterior del cuello, hombros y espalda. En casos atípicos, considerar otras localizaciones como cavidad oral o tejidos profundos.

**Criterios Esenciales**

Presencia de células fusiformes uniformes, colágeno grueso y adipocitos maduros en una matriz fibromixoide. Positividad inmunohistoquímica para CD34.

### Criterios Deseables

Ausencia de atipia significativa, infiltración en tejidos adyacentes y mitosis escasas. Pérdida de expresión de *RB1*. Negatividad para MDM2 y CDK4.

### ¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?

Confirmación molecular recomendable en casos con dudas diagnósticas o características superpuestas a neoplasias malignas como liposarcoma, mediante FISH para descartar amplificación de MDM2/CDK4.

## LESIONES VASCULARES QUE PUEDEN SIMULAR MALIGNIDAD: HIPERPLASIA PAPILAR ENDOTELIAL O TUMOR DE MASSON

La hiperplasia papilar endotelial (HPE) es una proliferación benigna y reactiva de células endoteliales que normalmente ocurre intravascular. Esta lesión fue descrita por primera vez en 1923 por el médico francés Pierre Masson y, a lo largo de los años, se ha reconocido como un proceso reactivo y no como una neoplasia (18).

### Características clínicas y epidemiológicas

La HPE es una entidad benigna que se presenta como una masa tumoral de crecimiento lento, normalmente en forma de nódulo o pápula subcutánea. Tiene una prevalencia ligeramente mayor en mujeres, con una relación de 1.3:1, y puede aparecer en un amplio espectro de edades, desde niños hasta adultos mayores (promedio de edad: 31 años). La mayoría de los casos se localizan en la dermis profunda o tejido celular subcutáneo de los dedos, la cabeza, el cuello y el tronco, con cambios de coloración en la piel. En algunos casos la localización puede ser profunda, la mayoría de las cuales ocurren en el contexto de una malformación venosa intramuscular. Se identifican tres formas de presentación de la HPE (18):

*Forma pura:* Se presenta como una lesión que ocurre dentro de un vaso dilatado, sin estar asociada a ninguna malformación vascular preexistente. Esta es la forma más común de HPE y se encuentra típicamente en la subcutis de los dedos, la cabeza y el cuello.

*Forma mixta:* En esta forma, la HPE se desarrolla dentro de una lesión vascular preexistente, como un hemangioma o una fleboectasia. En muchos casos, las lesiones vasculares subyacentes son malformaciones vasculares intramusculares. La HPE en esta forma puede aparecer en diversas localizaciones, sin una preferencia específica.

*Forma extravascular:* Aunque menos común, esta forma se presenta en hematomas y ocurre fuera de los vasos sanguíneos. En estos casos, el proceso de organización del hematoma da lugar a la proliferación endotelial papilar en una localización extravascular. Sin embargo, este diagnóstico debe darse con suma cautela.

### Hallazgos histológicos

Microscópicamente, la HPE se caracteriza por una proliferación papilar endotelial intravascular asociada frecuentemente con material trombótico y rodeada por una pseudocápsula fibrosa que contiene músculo liso residual o tejido elástico de la pared del vaso preexistente. En vasos de pequeño calibre que están marcadamente dilatados, es difícil observar músculo en la pseudocápsula.

Las formaciones papilares están compuestas por una sola capa de células endoteliales que rodean un core fibroso. Las células endoteliales pueden presentar leve atipia nuclear y se pueden observar algunas figuras de mitosis, no atípicas, sin embargo, no se observa necrosis del tejido ni un patrón de crecimiento infiltrativo. Se reconocen tres etapas en el desarrollo de la lesión: en un primer momento y en relación con material trombótico intravascular, se produce una proliferación de células endoteliales que se disponen formando papilas. En segundo lugar, estas células endoteliales subdividen el trombo parcialmente colagenizado. En la fase final se produce la fusión de las papilas dando lugar a una red vascular anastomosante (18).

**Diagnóstico inmunohistoquímico**

El diagnóstico inmunohistoquímico juega un papel limitado en el diagnóstico de la entidad, ya que al igual que otras entidades de estirpe vascular, la HPE muestra positividad para marcadores de células endoteliales como CD31, CD34, ERG o FVIII. De forma indirecta pueden ser de utilidad en el diagnóstico marcadores de músculo liso o tinciones específicas para elásticas con el objetivo de poner de manifiesto la pared muscular del vaso en el que se ha desarrollado la lesión.

**Diagnóstico diferencial**

El angiosarcoma es el diagnóstico diferencial más importante, ya que ambas lesiones pueden mostrar una proliferación endotelial exuberante. Sin embargo, la HPE se localiza casi exclusivamente dentro de un vaso dilatado, mientras que el angiosarcoma típicamente invade los tejidos circundantes. De forma excepcional, la HPE puede extenderse hacia los tejidos cuando se produce la rotura del vaso que lo contiene, pero en estos casos los cambios reactivos de la pared vascular atribuibles a la rotura permitirían su identificación. Además, el angiosarcoma se asocia con necrosis tisular, pleomorfismo celular marcado, y una tasa mitótica elevada, características que no se observan en la HPE. Otros diagnósticos diferenciales incluyen el hemangioma capilar lobulillar o granuloma piógeno, las malformaciones arteriovenosas, y los trombos organizados, que también pueden presentar características morfológicas similares.

**¿Cuándo sospecharlo?**

La HPE debe sospecharse ante la presencia de hematomas o lesiones vasculares preexistentes parcialmente trombosadas. La ausencia de necrosis, pleomorfismo y mitosis atípicas así como la localización intravascular la diferencian de un angiosarcoma.

**Criterios esenciales**

Localización intravascular en una lesión bien circunscrita o sobre hematomas encapsulados. Presencia de papilas formadas por células endoteliales sin pleomorfismo significativo. Ausencia de necrosis o mitosis atípicas.

**Criterios deseables**

Asociación con material trombótico.

**¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

No hay ninguna determinación molecular útil para el diagnóstico.

## LESIONES VASCULARES QUE PUEDEN SIMULAR MALIGNIDAD: HEMATOMA

El hematoma es una acumulación de sangre en los tejidos blandos que generalmente resulta de un traumatismo, y se presenta como una masa superficial con cambios en la coloración de la piel debido a la sangre acumulada. En la mayoría de los casos, los hematomas se resuelven de manera espontánea, sin embargo, algunos hematomas pueden persistir y evolucionar hacia un hematoma expansivo crónico, una entidad rara que puede simular un tumor maligno.

Este tipo de hematoma puede aparecer en cualquier momento después de un trauma, incluso mucho tiempo después del evento inicial, y es más frecuente en personas de entre 20 y 80 años, aunque se han descrito casos fuera de este rango de edad. Los hematomas expansivos crónicos son más comunes en los varones y se localizan principalmente en las extremidades inferiores, aunque pueden ocurrir en cualquier parte del cuerpo.

### Hallazgos Histológicos

Los hematomas crónicos presentan una cápsula fibrosa que rodea una colección de sangre organizada, tejido de granulación y nuevos vasos sanguíneos, junto con celularidad inflamatoria. En algunos casos se pueden identificar fibroblastos activados pleomórficos y figuras de mitosis. Aunque algunos tumores, como el angiosarcoma, pueden compartir características histológicas, los hematomas crónicos tienden a mostrar un menor pleomorfismo celular y una menor actividad mitótica en comparación con las neoplasias malignas (23).

### Diagnóstico Diferencial

Uno de los principales diagnósticos diferenciales es el angiosarcoma, debido a que se presenta como una masa expansiva y hemorrágica. Sin embargo, los angiosarcomas suelen presentar una mayor heterogeneidad celular, pleomorfismo y actividad mitótica que los hematomas expansivos crónicos. Además, los hematomas tienden a mostrar un patrón de realce periférico en las imágenes por resonancia magnética (MRI), mientras que los sarcomas suelen exhibir realce interno (23). En cuanto al estudio inmunohistoquímico, al presentar ambas lesiones positividad para marcadores vasculares como CD31, CD34 o ERG debido a su naturaleza vascular, no son útiles para diferenciarlas.

### ¿Cuándo sospecharlo?

Es importante considerar un hematoma expansivo crónico en pacientes que presenten una masa expansiva con antecedentes de trauma, especialmente si la lesión ha persistido durante un largo período de tiempo o ha aumentado de tamaño sin una explicación clara.

### Criterios esenciales

Los criterios esenciales para el diagnóstico incluyen: historia clínica de trauma o cirugía previa. Características radiológicas de una masa homogénea con realce periférico en resonancia magnética. Hallazgos histológicos de sangre organizada rodeada por una cápsula fibrosa y ausencia de características malignas.

### Criterios deseables/¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?

No hay ninguna determinación molecular útil para el diagnóstico.

## ESTEATONECROSIS Y OTRAS LESIONES QUE SIMULAN LIPOSARCOMA

### Características clínicas y epidemiológicas

La esteatonecrosis y otras lesiones benignas que pueden simular liposarcomas suelen presentarse como masas blandas e indoloras, frecuentemente en el tejido celular subcutáneo. Pueden asociarse a antecedentes de traumatismo o intervenciones quirúrgicas. A diferencia de los liposarcomas bien diferenciados o tumores adiposos atípicos (ALT/WDL, por sus siglas en inglés), que tienden a localizarse en regiones profundas o retroperitoneales, estas lesiones benignas no suelen ser profundas, presentar crecimiento progresivo ni invadir estructuras adyacentes (18).

### Hallazgos histológicos

La esteatonecrosis es un proceso benigno que ocurre como resultado de isquemia, trauma o inflamación en el tejido adiposo. Histológicamente, se caracteriza por:

- Adipocitos dañados: presentan vacuolas lipídicas reducidas o ausentes.
- Macrófagos espumosos: rodean a los adipocitos lesionados y muestran citoplasma granular o vacuolado.
- Células gigantes multinucleadas: estas células presentan múltiples núcleos que son uniformes en tamaño, forma y cromatina. A diferencia de las células observadas en liposarcomas, sus núcleos no muestran hipercromasia, indentaciones ni irregularidades en la membrana nuclear.
- Inflamación crónica: con linfocitos y células plasmáticas.
- Depósitos de calcio y fibrosis: puede observarse en lesiones de mayor tiempo de evolución.

Hallazgos histológicos que pueden llevar a confusión:

- Células Lochkern, que corresponden a adipocitos con invaginaciones lipídicas intranucleares (pseudoinclusiones).
  Características: Núcleos redondos, cromatina uniforme y membranas nucleares lisas.
  Importancia diagnóstica: Estas células son normales y no tienen la atipia de los lipoblastos. Frecuentemente se observan en tejido adiposo normal o en áreas de esteatonecrosis (24).
- Lipoblastos: Células adiposas neoplásicas consideradas diagnósticas de liposarcoma.
  Criterios diagnósticos clave (18): Núcleo hipercromático, indentado o festoneado. Citoplasma con vacuolas lipídicas de diferentes tamaños
  El contexto histológico es crucial; un lipoblasto solo es diagnóstico de malignidad cuando aparece en el contexto de una lesión compatible con ALT/WDL o liposarcoma pleomórfico.
  Importancia diagnóstica: Los lipoblastos son un hallazgo esencial en ALT/WDL y liposarcomas pleomórficos. Su presencia debe evaluarse cuidadosamente y en el contexto adecuado para evitar errores diagnósticos (18, 24).

### Diagnóstico inmunohistoquímico

Estas técnicas se recomiendan especialmente en casos donde la histología es ambigua, como en tumores lipomatosos con atipia citológica equívoca, lesiones profundas o recurrentes, o cuando existen características clínicas o radiológicas preocupantes que generan dudas diagnósticas. En los ALT/WDL, los marcadores MDM2 y CDK4 muestran inmunopositividad nuclear. Por el contrario, estas proteínas no están sobreexpresadas en lipomas o en lesiones de esteatonecrosis (18,25).

### Diagnóstico diferencial

El diagnóstico diferencial de estas lesiones incluye (18):

- *ALT/WDL:* Presentan lipoblastos atípicos y amplificación de MDM2.
- *Lipomas con esteatonecrosis:* Contienen macrófagos espumosos y en ocasiones células Lochkern, pero sin atipia nuclear.
- *Grasa normal con células Lochkern:* Pueden simular lipoblastos, pero carece de fondo histológico atípico.
- *Cambios adiposos atróficos:* Se observan adipocitos pequeños y uniformes con lipofuscina, sin atipia.
- *Reacción a silicona:* Se caracteriza por histiocitos multivacuolados con inflamación crónica.
- *Artefactos de fijación y acumulación de mucina:* Simulan lipoblastos, pero carecen de atipia nuclear.
- *Melanoma en anillo de sello y carcinoma:* Ambos pueden confundirse por sus células vacuoladas, pero se diferencian con estudios inmunohistoquímicos.

**Aspectos moleculares**

La amplificación de MDM2 y CDK4 en el cromosoma 12q14-q15 es característica de los ALT/WDL. El análisis por FISH es altamente sensible y específico, recomendado en los siguientes escenarios (18,25):

- Tumores lipomatosos con atipia citológica equívoca.
- Lipomas recurrentes.
- Lipomas profundos sin atipia que excedan los 10 cm.
- Tumores lipomatosos retroperitoneales o intraabdominales sin atipia citológica.
- Casos con características clínicas o radiológicas preocupantes que no encajan en los criterios anteriores.

**¿Cuándo sospecharlo?**

Masas adiposas con cambios inflamatorios o necrosis y tumores superficiales sin atipia nuclear evidente.

**Criterios esenciales**

Contexto histológico benigno/reactivo con componente inflamatorio/isquémico. Ausencia de lipoblastos atípicos (núcleo hipercromático e indentado y citoplasma con vacuolas lipídicas de diferentes tamaño).

**Criterios deseables**

Ausencia de positividad inmunohistoquímica de MDM2 y CDK4 ni amplificación en análisis molecular en casos seleccionados.

**¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

Se solicitará FISH para valorar amplificación de MDM2 en las siguientes situaciones:

- Tumores profundos mayores a 10 cm sin atipia.
- Lipomas recurrentes o con características clínicas preocupantes.
- Casos con atipia dudosa y resultado dudoso en la tinción inmunohistoquímica para MDM2.

## MELANOMA Y NEOPLASIAS MALIGNAS EPITELIALES

Entre las neoplasias con morfología fusocelular, siempre se deberían tener en cuenta en el diagnóstico diferencial el carcinoma y el melanoma (26). La localización tumoral, la clínica del paciente y los hallazgos radiológicos pueden ayudar y facilitar el diagnóstico en algún caso. En lesiones superficiales, el estudio de la epidermis puede demostrar la presencia de lesión intraepitelial, favoreciendo el diagnóstico de melanoma o carcinoma. En lesiones profundas situadas en sitios de drenaje linfovascular, se debería plantear, en el contexto clínico y radiológico adecuado, la posibilidad de melanoma o carcinoma metastásico. Las tinciones inmunohistoquímicas en la mayoría de los casos nos permitirán discriminar entre las diferentes neoplasias.

## MELANOMA DESMOPLÁSICO, FUSOCELULAR E INDIFERENCIADO/DESDIFERENCIADO

En la mayoría de melanomas primarios cutáneos, el diagnóstico patológico se basa en la integración de características clínicas, de los hallazgos histológicos al estudio H-E y del perfil inmunohistoquímico. Más raramente, su diagnóstico puede ser un reto ya que el melanoma puede presentar una histología y un inmunofenotipo atípicos que simulan otras entidades (27); esto es particularmente evidente en los casos de melanoma metastásico y en los subtipos histológicos de melanoma desmoplásico e indiferenciado/ desdiferenciado (28).

## MELANOMA DESMOPLÁSICO

Corresponde a un subtipo raro de melanoma (1-4 % de todos los melanomas) que afecta más frecuentemente a hombres (ratio hombre/mujer 1,75:1) con edad media de 65 años. Suele desarrollarse a partir de un melanoma tipo lentigo maligno en regiones cutáneas fotoexpuestas (principalmente cabeza y cuello), si bien hay menos frecuentemente casos de novo o asociados a melanomas de mucosa o acrales (27). Clinicamente puede confundirse con lesiones tipo cicatriz, un carcinoma basocelular o un dermatofibroma.

Histológicamente, el melanoma desmoplásico se presenta con un patrón infiltrativo de células fusocelulares con atipia leve-moderada que se disponen de forma dispersa en un estroma fibromixoide y asociadas a fibras colágenas. Puede mostrar patrón estoriforme. Frecuentemente, se observan imágenes de invasión perineural o intraneural. Ausencia de pigmento melanocítico en la mayoría de los casos.

Desde el punto de vista inmunohistoquímico, esta variante suele ser positiva de forma intensa y difusa para proteína S100 y SOX10, mientras que HMB45 y Melan-A suelen ser negativos. Además, se ha descrito positividad por actina de músculo liso y CD10 (29).

La mayoría de los melanomas desmoplásicos no presentan mutaciones activadoras de la vía MAPK (genes BRAF o NRAS) y suelen presentar inactivación del gen NF1 junto a mutaciones que activan la vía MAPK, incluyendo amplificación de genes como EGFR, MET, and ERBB2. También se describen mutaciones en la vía de retinoblastoma (*RB1*) o en CDKN2A. El 48 % de los casos muestran mutaciones en *TP53* (30).

El diagnóstico diferencial se plantea con cicatriz, dermatofibroma, neurofibroma, tumor maligno de la vaina nerviosa periférica (TMVNP), fibroxantoma atípico, sarcoma pleomórfico dérmico, leiomioma-leiomiosarcoma o carcinoma fusocelular. En este contexto, un panel inmunohistoquímico básico nos permite excluir muchos de ellos. El diagnóstico diferencial entre melanoma desmoplásico y TMVNP superficial puede ser complejo dado que morfológicamente pueden ser muy similares. El patrón de expresión de proteína S100 y SOX10 suele ser de ayuda en estos casos, ya que estos marcadores suelen ser difusamente positivos en el melanoma, mientras que la proteína S100 es focalmente positiva o negativa en TMVNP. La pérdida de expresión de la histona H3K27me3, muy útil para el diagnóstico de TMVNP, no discrimina entre ambas entidades en este contexto, ya que hasta el 25 % de los melanomas

desmoplásicos muestran también pérdida de expresión (26). La tinción inmunohistoquímica PRAME (preferentially expressed antigen in melanoma) puede ser positiva en ambas entidades y se describe positividad para PRAME en el 18-75 % de MPNST según la serie (31). Si bien no es de mucha utilidad por sí solo, este marcador puede usarse en conjunto con el resto de las técnicas inmunohistoquímicas previamente descritas para tipificar el tumor a estudio y favorecer el diagnóstico de melanoma en caso de co-expresión de proteína S100 y SOX10 (31). También, es importante valorar la periferia de la lesión en busca de neoplasia melanocítica intraepitelial, hallazgo que favorecería el diagnóstico de melanoma.

**¿Cuándo sospecharlo?**

Lesión mal definida en zona fotoexpuesta constituida por células fusocelulares con atipia leve-moderada y abundante matriz colágena.

**Criterios Esenciales**

Lesión sospechosa con positividad difusa para proteína S100 y/o SOX10.

**Criterios Deseables**

Presencia de componente melanocítico intraepitelial. Positividad inmunohistoquímica variable para PRAME.

**¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

La determinación de mutaciones en los genes BRAF o NRAS es poco frecuente, por lo que no suele ser de mucha ayuda en el diagnóstico de estos tumores. Las alteraciones más frecuentes en estos tumores como *RB1* o *TP53*, amplificaciones de NF1, EGFR, MET, ERBB2 tienen poca utilidad en el diagnóstico del día a día.

**MELANOMA FUSOCELULAR**

Representa una variante morfológica poco frecuente que suele afectar a paciente varones, con mayor incidencia en la sexta-octava década de vida. Representa un 3-14 % de todos los casos de melanoma y puede originarse en cualquier parte del cuerpo. No suele tener pigmento melanocítico. Puede ser un reto diagnóstico sobre todo en el contexto metastásico.

Histológicamente, corresponde a neoplasia fusocelular con atipia moderada, sin pleomorfismo evidente, cuyas células se organizan en fascículos multidireccionales. Desde el punto de vista inmunohistoquímico, suele haber expresión difusa para proteína S100 y SOX10, con positividad variable (sobre todo en las metástasis) para Melan-A, HMB45 y PRAME. La presencia de mutaciones activadoras de la vía MAPK (genes BRAF o NRAS) puede ser de ayuda para apoyar el diagnóstico de melanoma.

El diagnóstico diferencial se plantea con carcinoma indiferenciado/fusocelular (expresión de queratinas) y neoplasias mesenquimales fusocelulares monótonas, en particular sarcoma sinovial monofásico (positividad para SS18 o SSX, presencia de reordenamiento de los genes SS18 y SYT), tumores neurales benignos y tumor maligno de la vaina nerviosa periférica (TMVNP) (expresión focal de proteína S100 y SOX10, pérdida de la histona H3K27me3). El antecedente de melanoma maligno y una exploración clínica exhaustiva pueden ayudar a llegar al diagnóstico en casos seleccionados.

**¿Cuándo sospecharlo?**

Lesión epidérmica-dérmica en neoplasias primarias, lesión dérmica-hipodérmica o de partes blandas profundas (zonas de drenaje linfovascular) en contexto metastásico, constituida por células fusocelulares con atipia moderada y escaso pleomorfismo.

**Criterios Esenciales**

Lesión sospechosa con positividad para proteína S100 y/o SOX10.

**Criterios Deseables**

Presencia de componente melanocítico intraepitelial en la lesión primaria, antecedente de melanoma en el contexto metastásico. Positividad inmunohistoquímica variable para MelanA, HMB45 y PRAME.

**¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

Presencia de mutaciones en los genes BRAF o NRAS puede apoyar el diagnóstico de melanoma fusocelular en aquellos casos en los que el estudio morfológico e inmunohistoquímico no permite un diagnóstico de certeza, o para reforzar el diagnóstico en aquellos casos de melanoma metastásico en los que no se conoce el primario.

**MELANOMA INDIFERENCIADO/DESDIFERENCIADO**

Corresponde a una variante agresiva, sobre todo con presentación metastásica, en la que el melanoma muestra una morfología inusual y pierde evidencia inmunohistoquímica de diferenciación melanocítica (26). En este caso, es de extrema importancia conocer la historia clínica y, en particular, el antecedente de melanoma maligno.

Morfológicamente se observa una neoplasia fusocelular mitóticamente activa, compuesta por células con núcleo ovoide, cromatina vesicular, nucleolo prominente y citoplasma anfófilo. La atipia citológica suele ser obvia, pero no suele haber mucho pleomorfismo nuclear. Desde el punto de vista inmunohistoquímico, esta variante suele perder proteína S100, SOX10, HMB45 y MelanA, aunque se describe en alguna serie de casos expresión conservada de PRAME (32). Puede expresar de forma aberrante otros marcadores, como actina de músculo liso, desmina, pancitoqueratinas…(33). Se han descrito casos con desdiferenciación y diferenciación heteróloga hacia otros tipos celulares, en particular leiomiosarcoma y rabdomiosarcoma (29).

El diagnóstico diferencial suele hacerse con carcinoma indiferenciado/fusocelular (expresión de queratinas), tumor maligno de la vaina nerviosa periférica (TMVNP) (expresión focal de proteína S100 y SOX10, pérdida de la histona H3K27me3), sarcoma sinovial (expresión de SS18, presencia de reordenamiento de los genes SS18 y SYT) o fibroxantoma atípico/sarcoma pleomórfico. En este último contexto, puede ser de utilidad la tinción inmunohistoquímica de PRAME, ya que se puede mantener de forma intensa y difusa en el melanoma, mientras que se describe positividad parcheada y débil en aislados casos de fibroxantoma atípico/sarcoma pleomórfico dérmico (32). Mutaciones en los genes BRAF o NRAS pueden ser útiles para favorecer el diagnóstico de melanoma maligno (27).

**¿Cuándo sospecharlo?**

Lesión mal definida en zona fotoexpuesta, mucosas o regiones ganglionares, constituida por células fusocelulares con atipia leve-moderada y actividad mitótica moderada.

**Criterios Esenciales**

Neoplasia fusocelular con negatividad para marcadores de estirpe melanocítica en piel fotoexpuesta, mucosas o ganglios lñinfáticos regionales, tras descartar sus diagnósticos diferenciales.

**Criterios Deseables/¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

Demostrar la presencia de mutaciones en los genes BRAF o NRAS es altamente recomendable para confirmar el diagnóstico de melanoma indiferenciado o desdiferenciado.

## CARCINOMA FUSOCELULAR, SARCOMATOIDE, DESMOPLÁSICO Y METASTÁSICO

En el diagnóstico diferencial de las neoplasias mesenquimales fusocelulares y/o pleomórficas superficiales, siempre hay que tener en cuenta y descartar las variantes fusocelular, sarcomatoide y desmoplásica de carcinoma primario cutáneo, en particular cuando se trata de tumores superficiales localizados en zonas fotoexpuestas. En tumores profundos, también se debería tener en consideración, en el contexto clínico, la posibilidad de metástasis de carcinomas mal diferenciados o sarcomatoides. El estudio inmunohistoquímico, junto con la sospecha clínica, puede ser de ayuda en el diagnóstico final (26).

## CARCINOMA ESCAMOSO FUSOCELULAR

Dentro de este grupo se incluyen neoplasias epiteliales con morfología fusocelular y/o pleomórfica que suelen ocurrir en regiones fotoexpuestas, en particular cabeza y cuello, espalda, tronco y extremidades superiores. Tumores similares se describen en regiones mucosas de cabeza y cuello (laringe, faringe, región nasal) así como en región urogenital, en particular en pene distal (27). Clínicamente, suele ser un tumor, nódulo o placa con características dermatológicas superponibles a un carcinoma escamoso convencional.

Histológicamente, se trata de una proliferación de células fusocelulares y/o pleomórficas con atipia variable y disposición en fascículos multidireccionales. Ocasionalmente, adquieren patrón estoriforme. El estroma no muestra desmoplasia prominente. Puede haber células gigantes multinucleadas de tipo osteoclasto. No suele mostrar queratinización. En las regiones adyacentes al tumor, puede encontrarse queratosis actínica o carcinoma escamoso in situ.

Estos tumores suelen presentar positividad heterogénea para queratinas de alto peso molecular (34βE12), MNF116, p63, p40; también se ha descrito positividad para EMA y Queratina AE1/AE3, aunque esta puede ser muy focal. De forma aberrante, puede haber expresión de actina de músculo liso, con negatividad para otros marcadores musculares (27).

El diagnóstico diferencial suele hacerse con melanoma desmoplásico (positividad para proteína S100 y SOX10), dermatofibrosarcoma protuberans (positividad para CD34, presencia de reordenamiento COL1A1::PDGFRB), leiomioma o leiomiosarcoma (positividad para actina, desmina, H-Caldesmon) y fibroxantoma atípico (AFX)/sarcoma pleomórfico indiferenciado. Este último diagnóstico diferencial puede a veces ser muy complejo y la inmunohistoquímica puede ser ambigua, ya que se describen aislados casos de AFX/sarcoma pleomórfico dérmico con positividad focal para p63 (34), así como carcinomas fusocelulares/sarcomatoides positivos para CD10, marcador típicamente positivo en AFX/sarcoma pleomórfico dérmico (35). En este contexto, la evidencia de queratosis actínica o carcinoma escamoso in situ adyacente al tumor, una amplia inclusión tumoral que permita valorar posibles áreas de carcinoma convencional, la localización tumoral y las características clínicas del paciente, junto con un panel inmunohistoquímico amplio, pueden permitir discernir entre estas entidades (26,27).

**¿Cuándo sospecharlo?**

Lesión cutánea en zona fotoexpuesta en paciente con daño actínico, lesión de vía aerea o vía urinaria, constituida por células fusocelulares y/o pleomórficas.

**Criterios Esenciales**

Lesión sospechosa con positividad para queratinas de alto peso molecular (34βE12), MNF116, Queratina AE1/AE3 y p63.

**Criterios Deseables**

Presencia de displasia del epitelio/carcinoma escamoso in situ.

**¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

No hay ninguna determinación molecular útil para el diagnóstico.

## CARCINOMA ESCAMOSO CON DIFERENCIACIÓN SARCOMATOIDE

Se trata de una variante incluída en la versión del 2023 del libro de tumores cutáneos, WHO Classification of Tumours Editorial Board, definida como un carcinoma de células escamosas en el que se evidencia una diferenciación sarcomatoide, usualmente en forma de diferenciación condroblástica, osteoblástica, rabdomiosarcomatosa o mioide (27). Suele afectar a zonas fotoexpuestas, predominantemente cabeza y cuello, cuello, tronco y extremidades superiores.

Desde el punto de vista histológico, se observa un componente de carcinoma de células escamosas con morfología convencional y queratinización, junto con un componente sarcomatoide. La proporción de los dos componentes es variable. El componente epitelial expresa marcadores inmunohistoquímicos epiteliales. El estudio molecular de estos tumores suele demostrar un origen clonal de los dos componentes.

El diagnóstico diferencial con tumores mesenquimales se plantea en particular cuando no se identifica el componente epitelial (biopsia parcial o inclusión incompleta) y suele hacerse con las mismas entidades comentadas en el apartado de carcinoma fusocelular.

**¿Cuándo sospecharlo?**

Lesión en zona fotoexpuesta o en relación a epitelio en paciente con daño actínico, con histología bifásica.

**Criterios Esenciales**

Lesión sospechosa con positividad para queratinas de alto peso molecular (34βE12), MNF116, Queratina AE1/AE3 y p63 en el componente epitelial y presencia de componente sarcomatoide con diferenciación específica.

**Criterios Deseables**

Presencia de displasia del epitelio/carcinoma escamoso in situ.

**¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

No hay ninguna determinación molecular útil para el diagnóstico.

## CARCINOMA ESCAMOSO DESMOPLÁSICO

Corresponde a una variante inusual, representando el 7 % de los carcinomas escamosos infiltrantes primarios cutáneos. Suele afectar a paciente de edad avanzada, principalmente de sexo masculino. Ocurre en regiones fotoexpuestas, como cabeza, cuello y región auricular, y se sitúa en dermis y/o hipodermis. Tiene un modesto riesgo de recurrencia y metástasis (27,3 % y 22,7 % respectivamente) (26,32).

Histológicamente, es una neoplasia fusocelular organizada en nidos y cordones inmersa en un estroma marcadamente desmoplásico. Las células neoplásicas suelen presentar un pleomorfismo evidente y pueden mostrar más raramente queratinización individual. Se observan imágenes de invasión perineural.

El perfil inmunohistoquímico es superponible al descrito en el carcinoma escamoso fusocelular (ver apartado anterior).

El diagnóstico diferencial suele hacerse con otros carcinomas primarios cutáneos (carcinoma basocelular, carcinoma anexial microquístico, tricoepitelioma desmoplásico…), melanoma desmoplásico (positividad para proteína S100 y SOX10), cicatriz tipo queloide y con las mismas entidades mesenquimales comentadas en el apartado de carcinoma fusocelular.

**¿Cuándo sospecharlo?**

Lesión en zona fotoexpuesta en paciente con daño actínico, constituida por células fusocelulares y/o pleomórficas con atipia leve y marcado estroma desmoplásico.

**Criterios Esenciales**

Lesión sospechosa con positividad para queratinas de alto peso molecular (34βE12), MNF116, Queratina AE1/AE3 y p63.

**Criterios Deseables**

Presencia de displasia del epitelio/carcinoma escamoso in situ.

**¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

No hay ninguna determinación molecular útil para el diagnóstico.

## CARCINOMA METASTÁSICO

El carcinoma metastásico a partes blandas es un diagnóstico diferencial que hay que plantear en caso de tumores de partes blandas especialmente de localización en extremidades, tronco, espaldas y glúteo con expresión inmunohistoquímica de marcadores epiteliales. Estos tumores pueden ser un reto diagnóstico porqué morfológicamente pueden simular un tumor mesenquimal y porqué en el estudio

histopatológico no se plantean en el diagnóstico diferencial, sobre todo en caso de ser la primera manifestación de un carcinoma metastásico. En este contexto, realizar un panel inmunohistoquímico básico que incluya marcadores epiteliales (queratina AE1/AE3, p63…), aunque la impresión morfológica sea de tumor mesenquimal, puede ser crucial para un diagnóstico correcto. El origen del primario suele ser más frecuentemente el pulmón, seguido de mama y riñón. Se han descrito casos de carcinoma sarcomatoide metastásico a partes blandas, que suponen un reto diagnóstico aún mayor, ya que estos tumores pueden perder marcadores inmunohistoquímicos de estirpe epitelial y presentar diferenciación divergente, con positividad para marcadores mesenquimales (36).

El diagnóstico diferencial se plantea con neoplasias mesenquimales con expresión de marcadores epiteliales, siendo las más frecuentes las neoplasias mioepiteliales (coexpresión de queratinas/EMA y proteína S100/SOX10 o proteína gliofibrilar ácida GFAP; posible presencia de reordenamiento del gen EWSR1), el sarcoma epitelioide (coexpresión de queratinas y CD34, pérdida inmunohistoquímica de SMARCB1) y el sarcoma sinovial (expresión de SS18, presencia de reordenamientos de los genes SS18 y SYT).

**¿Cuándo sospecharlo?**

Lesión en partes blandas profundas o en zonas de drenaje linfovascular.

**Criterios Esenciales**

Lesión morfológicamente sugestiva de neoplasia mesenquimal en partes blandas (extremidades, tronco, espaldas y glúteo) con positividad para queratinas, en el contexto clínico-radiológico de neoplasia primaria sólida.

**Criterios Deseables/¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

Las determinaciones moleculares en este caso dependerán del tumor primario y el patrón morfológico.

## NEOPLASIAS LINFOIDES, MIELOIDES E HISTIOCITARIAS AFECTANDO PARTES BLANDAS

La celularidad de tipo hematolinfoide incluye celularidad mieloide, eritroide, megacariocitos, linfocitos (B, T o NK) y monocitos/histiocitos. En partes blandas podemos encontrar uno o más de estos elementos celulares reactivos o neoplásicos, en forma de tumores o pseudotumores (ver Figura 1). Las tinciones inmunohistoquímicas nos van a permitir identificar los diferentes tipos celulares.

**Figura 1.** Clasificación de lesiones hematolinfoides en partes blandas.

| Tipo celular | Tumor | Lesiones pseudotumorales |
|---|---|---|
| **Linfocitos** | Linfomas | Hiperplasia linfoide<br>Enfermedad de Kimura<br>Enfermedad de Castleman |
| **Células plasmáticas** | Plasmocitoma | Enfermedad asociada a IgG4 |
| **Mieloide** | | Hematopoyesis extramedular |
| **Monocitos/histiocitos** | Sarcoma histiocítico<br>Enfermedad de Erdheim-Chester | Enfermedad de Rosai-Dorfman<br>Xantogranuloma juvenil<br>Pseudotumor de células fusiformes asociado a micobacterias<br>Procesos inflamatorios (reacción granulomatosa, a cuerpo extraño, …) |
| **Células dendríticas** | Histiocitosis/sarcoma de células de Langerhans | |
| **Celularidad del estroma linfoide** | Sarcoma de células dendríticas foliculares<br>Sarcoma de células dendríticas foliculares inflamatorias EBV<br>Miofibroblastoma intranodal en empalizada | |

**NEOPLASIAS LINFOIDES**

La afectación de partes blandas por linfoma representa afectación por continuidad o diseminación de un linfoma sistémico. Es muy poco frecuente un linfoma primario de partes blandas, a diferencia de hueso.

**Clínicamente** los linfomas primarios de partes blandas pueden afectar a cualquier grupo de edad, pero la mayoría se presentan en mayores de 50 años. Se presentan como masa de partes blandas, con tumefacción o dolor. Las localizaciones por orden de frecuencia son muslo, tronco, brazo y pierna.

Se consideran factores predisponentes: linfedema postmastectomía, proceso inflamatorio asociado a autoinmunidad, antecedente de radioterapia, antecedente traumático o cirugía previa. Pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (HIV) pueden presentar con más frecuencia linfomas en partes blandas.

**Histológicamente**, el linfoma se presenta con un patrón infiltrativo, con destrucción del patrón arquitectural y permeación de tejidos adyacentes (37).

Los linfomas se pueden presentar con morfología o patrones inusuales que nos pueden confundir con sarcomas:

- *Estroma mixoide:* crecimiento aislado o cordonal de las células neoplásicaS en relación a abundante estroma mixoide, simulando condrosarcoma mixoide extraesquelético, mixofibrosarcoma u otros sarcomas con cambio mixoide (38,39).
- *Células fusiformes:* algunos linfomas pueden presentar células alargadas, simulando un sarcoma, aunque sin patrón fascicular. Este tipo de morfología está condicionada por la presencia de estroma fibroso.

- *Estroma fibrilar y formación de rosetas:* de forma excepcional algún linfoma puede presentar material fibrilar y formación de rosetas simulando un tumor de vaina nerviosa periférica o un sarcoma de células redondas (40).
- *Crecimiento intravascular:* el linfoma intravascular es un subtipo reconocido de linfoma, que condiciona áreas de infarto secundarias a la oclusión vascular. En ocasiones las células neoplásicas se disponen en empalizada en la parte luminal simulando un angiosarcoma.

En caso de sospechar un linfoma el panel inmunohistoquímico debe incluir un marcador genérico de celularidad linfoide como CD45 (antígeno leucocitario común), y si resulta positivo incluir marcadores de línea B (CD20 y CD79a), y de línea T (CD3 y CD5).

El **diagnóstico diferencial** se plantea con sarcoma sinovial pobremente diferenciado (positividad focal para queratina y EMA, y difusa para SS18 y TLE1, y reordenamiento de SS18), melanoma maligno (positividad para S100, SOX-10 y HMB-45), sarcoma de Ewing (positividad de membrana citoplasmática difusa para CD99, NKX.2 y reordenamiento de EWSR-1), liposarcoma mixoide de alto grado (presenta vasos con patrón plexiforme, estroma mixoide y ocasionales lipoblastos. Positividad y reordenamiento de DDIT3), carcinoma de Merckel (positividad para queratina 20 con patrón paranuclear dot-like, sinaptofisina y cromogranina) y sarcoma histiocítico (positividad para CD68, CD183, lisozima y mieloperoxidasa).

Es importante realizar un correcto diagnóstico de linfoma versus sarcoma, porque es potencialmente curable con quimioterapia y radioterapia.

**¿Cuándo sospecharlo?**

Cuando exista antecedente diagnóstico de linfoma y/o veamos una proliferación linfoide monomorfa con patrón infiltrativo en partes blandas.

**Criterios Esenciales**

Positividad para antígeno leucocitario común (CD45), y predominio de marcadores de linfocitos B o T.

**Criterios Deseables/ ¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

Demostrar la presencia de clonalidad B (reordenamiento de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas, IGH) o clonalidad T (reordenamiento del receptor de células T) en casos dudosos o de presentación clínica atípica.

**HIPERPLASIA LINFOIDE**

En partes blandas podemos encontrar acúmulos de celularidad linfoide, que en ocasiones pueden presentar criterios de entidades específicas como tumor miofibroblástico inflamatorio, enfermedad fibroesclerosante asociada a IgG4, enfermedad de Kimura o enfermedad de Castleman. Sin embargo, a veces los hallazgos histológicos no son consistentes y se describen como hiperplasia linfoide localizada no específica. El término de hiperplasia linfoide localizada no específica no es una entidad, pero representa una respuesta morfológica del sistema inmune a una variedad de estímulos como infección, hipersensibilidad y material de cuerpo extraño. Se caracteriza por la presencia de un denso infiltrado constituido por linfocitos y células plasmáticas maduras, con ocasionales inmunoblastos reactivos y tractos fibroesclerosos.

Las **tinciones inmunohistoquímicas** demuestran la presencia de ocasionales nódulos de linfocitos CD20 positivos, que corresponden a folículos linfoides reactivos o centros germinales primarios, con presencia de trama dendrítica con CD21, y abundantes linfocitos CD3 positivos.

El **diagnóstico diferencial** principal consiste en excluir un linfoma.

### Enfoque diagnóstico de infiltrados linfoides en partes blandas

Cuando tenemos un infiltrado linfoide denso constituido por linfocitos grandes atípicos, el diagnóstico de linfoma no resulta complicado, aunque se debe plantear el diagnóstico diferencial con carcinoma, melanoma o sarcoma. Las tinciones inmunohistoquímicas (IHQ) son útiles para confirmar el diagnóstico, así como para orientar sobre el tipo de diferenciación celular y la clasificación.

Cuando el infiltrado linfoide está constituido por linfocitos pequeños, o linfocitos pequeños entremezclados con linfocitos grandes, puede ser complicado diferenciar entre linfoma e hiperplasia linfoide reactiva. En la Figura 2 se describen las características que favorecen el diagnóstico de linfoma. Dos o más características son concordantes con el diagnóstico de linfoma.

**Figura 2.** Hallazgos que favorecen el diagnóstico de linfoma sobre infiltrado linfoide reactivo en partes blandas.

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Morfología** | Folículos alterados, con ausencia de mantos, pérdida de polaridad o macrófagos de cuerpo tingible<br>Folículos constituidos por linfocitos pequeños hendidos<br>Amplia coalescencia de zonas marginales alrededor de los folículos | Crecimiento permeativo<br>Colonización o destrucción parcial de los folículos linfoides<br>Invasión de vasos o nervios | Presencia de linfocitos de tamaño intermedio<br>Irregularidad del núcleo<br>Células plasmáticas con cuerpos de Dutcher<br>Citoplasma claro |
| **IHQ** | Áreas difusas de células CD20 +, con ocasionales linfocitos T, CD3+ | Abundantes células CD20+ entre los folículos linfoides<br>Abundantes células CD10+ fuera de los centros germinales | Inmunofenotipo aberrrante (coexpresión de CD5, CD43, ciclina-D1; expresión de bcl-2 en los centros germinales; pérdida de marcadores de línea T)<br>Restricción de cadenas ligeras<br>Extensa expresión de CD56, TIA-1 o EBER en una proliferación CD3+ |

## PLASMOCITOMA LOCALIZADO EN PARTES BLANDAS (PLASMOCITOMA SOLITARIO EXTRAMEDULAR)

El plasmocitoma es una neoplasia de células plasmáticas monoclonal, que puede afectar partes blandas, con más frecuencia la región paravertebral.

Se presenta como un infiltrado denso de células con morfología plasmocitoide, si bien a veces pueden presentar una morfología atípica que dificulta su identificación. Las variantes plasmablástica o anaplásica pueden presentar mayor dificultad diagnóstica.

**Inmunohistoquímicamente**, las células plasmáticas neoplásicas son positivas para CD138, MUM-1, con expresión monotípica de cadenas ligeras de las inmunoglobulinas (estudio de hibridación in situ). Negatividad para CD20 y CD3. La tinción para CD45, CD79a, CD56 y EMA puede ser variable.

Hay que tener en cuenta que CD138 puede ser positivo en algunos carcinomas y de forma más rara para melanoma, así que en casos con morfología aberrante debemos añadir tinciones para queratina, S-100, SOX-10 y HMB-45).

El **diagnóstico diferencial** se plantea con linfoma plasmablástico (pacientes con inmunodeficiencia, EBER+), carcinoma metastásico (positividad para queratina), melanoma (positividad para S100, SOX-10, HMB-45 y melan-A, y pueden presentar positividad focal para CD138), mioepitelioma de partes blandas (presencia de estroma mixoide y positividad para queratina, EMA, S100 y SOX-10) y sarcoma epitelioide (crecimiento nodular con células epitelioides y focos de necrosis central, con positividad para queratina y CD34).

El plasmocitoma puede estar constituido por células plasmáticas maduras, y en este caso se debe diferenciar de inflamación crónica inespecífica. El infiltrado inflamatorio reactivo está constituido por celularidad polimorfa, incluidos linfocitos y miofibroblastos. La presencia de abundantes cuerpos de Dutcher, favorece el diagnóstico de proceso neoplásico. La tinción para cadenas ligeras ayuda a diferenciar entre ambas, pues la presencia de restricción de cadenas ligeras es concordante con plasmocitoma.

**¿Cuándo sospecharlo?**

Proliferación de células plasmáticas, o células con morfología plasmocitoide.

**Criterios esenciales**

Positividad para CD138, MUM-1 y restricción de cadenas ligeras. Negatividad para queratina, S-100, SOX-10, HMB-45 y CD34.

**Criterios Deseables/ ¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

Casos con presentación atípica o que no se demuestra expresión monotípica de cadenas ligeras mediante tinción inmunohistoquímica o ISH. En estas situaciones podemos realizar estudio de reordenamiento de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas, IGH, pero es más sensible el estudio molecular de cadenas ligeras.

## LINFOMA PLASMABÁSTICO

El linfoma plasmablástico es un linfoma agresivo constituido por linfocitos B grandes y atípicos con morfología plasmablástica o inmunoblástica y perfil inmunohistoquímico de diferenciación B terminal, con localización predominantemente extranodal. Hasta un 15 % de los casos se localizan en partes blandas.

Los linfomas plasmablásticos de novo afectan a pacientes con inmunodeficiencia/inmunosupresión.

**Histológicamente** se caracteriza por una proliferación difusa de células grandes con un patrón prominente en forma de cielo estrellado. Las células son grandes y no cohesivas, con abundante citoplasma basófilo, un núcleo vesicular grande central o excéntrico y un único nucléolo distintivo (morfología plasmablástica/inmunoblástica).

Las células neoplásicas son inmunohistoquímicamente positivas para CD138 y MUM-1, con sobrexpresión de c-myc. Expresión variable de EMA, CD79a, CD30, CD56. Negativdad para CD45 y CD20.

Se asocia con expresión de virus Epstein-Barr (60 % en inmunocompetentes y 80 % en inmunodeprimidos).

El **diagnóstico diferencial** se plantea con carcinoma metastásico (positividad para queratina), melanoma (positividad para S100, SOX-10, HMB-45 y melan-A, y pueden presentar positividad focal para CD138), sarcoma epitelioide (crecimiento nodular con células epitelioides y focos de necrosis central, con positividad para queratina y CD34) y sarcoma con morfología pleomórfica.

**¿Cuándo sospecharlo?**

Proliferación de células pleomórficas, de aspecto epitelioide o plasmocitoide, con nucleolo evidente. Contexto clínico de inmunosupresión.

**Criterios esenciales**

Positividad para CD138, MUM-1. Demostrar la expresión de virus Epstein-Barr. Negatividad para queratina, S-100, SOX-10, HMB-45 y CD34.

**Criterios Deseables/ ¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

Casos con presentación atípica o inmunofenotipo aberrante, podemos realizar estudio de reordenamiento de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas, IGH.

## ENFERMEDAD ASOCIADA A IGG4

La enfermedad relacionada con IgG4 (ER-IgG4) es una entidad recientemente nominada para definir diversas enfermedades caracterizadas por infiltración linfoplasmocítica, fibrosis, presencia de un número aumentado de células IgG4+ y, en gran parte de los casos, niveles aumentados de IgG4 sérica, afectando frecuentemente el páncreas, las glándulas salivales y los ganglios linfáticos, pero pudiendo comprometer casi cualquier estructura de la anatomía humana.

Tres **hallazgos histopatológicos** caracterizan a la enfermedad en el órgano afectado:

- Una presencia de esclerosis de patrón estoriforme
- Un denso infiltrado linfoplasmocitario
- Una proporción aumentada de células positivas para IgG4 por inmunohistoquímica respecto a las positivas para IgG. El promedio de esta proporción es una relación de células IgG4+/IgG+ mayor al 40 %, pero el criterio varía según el órgano afectado.

Cuando se presenta en partes blandas, retroperitoneo o pelvis plantea el diagnóstico diferencial con tumor miofibroblástico inflamatorio debido a su patrón histológico fibroesclerosante (41).

**¿Cuándo sospecharlo?**

Infiltrado linfoplasmocitario en relación a un estroma fibroescleroso.

**Criterios esenciales**

La presencia de esclerosis de patrón estoriforme; y presencia de múltiples agregados linfoplasmocitarios, y relación de células IgG4+/IgG+ mayor al 40 %.

**Criterios deseables**

Demostrar la presencia de IgG4 en suero.

**¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

No hay ninguna determinación molecular útil para el diagnóstico.

**HEMATOPOYESIS EXTRAMEDULAR**

En situaciones de hipofunción de la médula ósea como anemia severa, mielofibrosis, diversos procesos hematológicos e infiltración neoplásica masiva, podemos encontrar celularidad hematopoyética extramedular en diversos órganos, incluido partes blandas a nivel para espinal y retroperitoneo. En forma de tumoración grande mal delimitada constituida por megacariocitos y elementos mieloides y eritroides precursores y diferentes estadios de maduración. Según la proporción de elementos hematopoyéticos y su morfología nos puede plantear el diagnóstico diferencial con un sarcoma pleomórfico indiferenciado (42).

**¿Cuándo sospecharlo?**

Historia de hipofunción de la médula ósea. Presencia aislada de células con núcleo hiperlobulado, sin pleomorfismo franco, y abundante citoplasma eosinófilo, o acompañadas de celularidad polimorfa (celularidad mieloide, granulocitos, polimorfonucleares, eritroblastos).

**Criterios esenciales**

Demostrar la presencia de megacariocitos (positivos para factor VIII y CD61), elementos mieloides (positivos para CD15) y eritroides (positivos para e-cadherina o glicoforina).

**Criterios Deseables/ ¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

No hay ninguna determinación molecular útil para el diagnóstico.

## SARCOMA HISTIOCÍTICO

El sarcoma histiocítico puede presentar localizaciones extranodales en partes blandas, piel y visceral. Está constituido por células histiocitarias o mielomonocíticas, de aspecto epitelioide, con núcleo grande, irregular, con pleomorfismo variable y abundante citoplasma, con ocasional microvacuolización, y en ocasiones hemofagocitosis. En ocasiones se observa atipia severa, binucleación y células pleomórficas. Se acompaña de celularidad inflamatoria polimorfa.

Las células neoplásicas son inmunohistoquímicamente positivas para CD68, CD163, lisozima y mieloperoxidasa, CD45, y de forma variable y focal para S-100. Negatividad para queratina, CD20, CD1a, CD21, CD30 y ALK.

El **diagnóstico diferencial** se plantea con linfoma difuso de célula grande B (positividad para CD20), linfoma anaplásico (positividad para CD30, y variable para ALK), sarcoma de células dendríticas (positividad para CD21, CD23 y/o CD35), carcinoma pobremente diferenciado (patrón de crecimiento más cohesivo y positividad para queratina), melanoma maligno (positividad para S100, SOX-10 y HMB-45), angiosarcoma epitelioide (crecimiento difuso y en nidos de células epitelioides con macronucleolo, positividad para CD31 y ERG), PEComa maligno (positividad para HMB-45, melan-A, y variable para α actina, desmina y h-caldesmon) y sarcoma pleomórfico indiferenciado (ausencia de diferenciación celular con marcadores inmunohistoquímicos, diagnóstico de exclusión una vez se han descartado las entidades que se plantean en el diagnóstico diferencial) (43).

### ¿Cuándo sospecharlo?

Proliferación neoplásica maligna de morfología epitelioide con abundante celularidad inflamatoria polimorfa acompañante.

### Criterios esenciales

Tumor compuesto de células grandes no cohesivas con abundante citoplasma eosinofílico; células neoplásicas con pleomorfismo variable con núcleos reniformes. Inmunotinción positiva para dos o más marcadores histiocíticos (CD68, CD163 y lisozima). Negatividad para queratina, CD20, CD1a, CD21, CD30 y ALK.

### Criterios Deseables/ ¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?

No hay ninguna determinación molecular útil para el diagnóstico.

## ENFERMEDAD DE ERDHEIM-CHESTER

La enfermedad de Erdheim-Chester es una neoplasia caracterizada por una acumulación de histiocitos maduros en diferentes órganos asociada con inflamación y fibrosis. Es una enfermedad multisistémica y puede afectar prácticamente a cualquier órgano. La afectación simétrica bilateral de los huesos largos es característica y se detecta en el 80-95 % de los casos. Las infiltraciones de partes blandas perinéfricas (58 %) y periaórticas (46 %) también son frecuentes. También puede ocurrir infiltración de los pulmones, el corazón, la serosa y la piel (xantelasma o lesiones papulares). El tejido lesional muestra proliferación de histiocitos mononucleares pequeños, cargados de lípidos y/o espumosos, asociados con proporciones variables de células gigantes multinucleadas de tipo Touton, linfocitos pequeños, células plasmáticas y/o neutrófilos. La histología, a veces, puede ser indistinguible de la del xantogranuloma. Presencia de fibrosis, a veces predominante, que lleva a interpretar la lesión

como un proceso fibroinflamatorio reactivo. La histiocitosis mixta de células de Langerhans puede estar presente en la misma biopsia.

Las células neoplásicas son positivas para CD163, CD68 y CD4, y negativas para CD1a y S-100.

El **diagnóstico diferencial** se plantea con infiltrado histiocitario reactivo y tumor de células granulares (positividad para S-100)

La frecuencia alélica de las mutaciones BRAF p.V600E puede ser < 5 % en una cuarta parte de los casos y, por lo tanto, no detectable mediante métodos moleculares menos sensibles (61).

**¿Cuándo sospecharlo?**

Infiltrado de histiocitos espumosos en el contexto clínico y radiológico apropiado.

**Criterios esenciales**

Positividad para CD163, CD68 y CD4. Negatividad para CD1a y S-100

**Criterios Deseables/ ¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

En todos los casos es recomendable el análisis de mutaciones de la vía MAPK, siendo la más frecuente la mutación de BRAF V600E.

**ENFERMEDAD DE ROSAI-DORFMAN**

La enfermedad de Rosai-Dorfman es un proceso inflamatorio crónico, rico en histiocitos, de causa desconocida. Afecta principalmente a ganglios linfáticos, pero se puede localizar en otros órganos, incluso en partes blandas. Cuando se localiza en partes blandas afecta el tejido subcutáneo de extremidades, pared torácica, y con menos frecuencia cabeza y cuello, en forma de masa tumoral mal definida (entre 1-10 cm). Está constituida por grupos densos de linfocitos B, grupos sincitiales de histiocitos grandes con núcleo redondo, nucleolo prominente y abundante citoplasma pálido. Los histiocitos son grandes con abundante citoplasma pálido o eosinófilo bien definido, con presencia de linfocitos intracitoplasmáticos (fenómeno de emperipolesis). Se acompaña de linfocitos T reactivos y agregados de células plasmáticas maduras. Característicamente los histiocitos son positivos para CD68 y S-100, con negatividad para CD1a y langerina (43).

El diagnóstico diferencial se puede plantear con tumor miofibroblástico inflamatorio (positividad para α actina, y para ALK en el 50 % de los casos y negatividad para S-100) y sarcoma fibroblástico mixoinflamatorio (negatividad para S-100).

**¿Cuándo sospecharlo?**

Histiocitos grandes con emperipolesis

**Criterios esenciales**

Positividad para S100, que también resalta la emperipolesis.

**Criterios Deseables/ ¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

No hay ninguna determinación molecular útil para el diagnóstico.

## 7.10. HISTIOCITOSIS/SARCOMA DE CÉLULAS DE LANGERHANS

Las células de Langerhans son células dendríticas especializadas que se localizan en la piel y mucosas, y participan como presentadoras de antígenos a los linfocitos T. La histiocitosis de células de Langerhans es relativamente frecuente, mientras que el sarcoma de células de Langerhans es muy poco frecuente, y afecta principalmente a niños y adultos jóvenes. Se localiza principalmente en hueso, en forma de lesión lítica solitaria, pero también se puede localizar en piel, ganglios linfáticos, tracto gastrointestinal y partes blandas. Histológicamente encontramos un infiltrado polimorfo constituido por abundantes eosinófilos y células de Langerhans con núcleo reniforme y hendidura nuclear con morfología en grano de café, acompañados de ocasionales linfocitos maduros, leucocitos eosinófilos y células plasmáticas.

El sarcoma de células de Langerhans está constituido por histiocitos pleomórficos con citología de alto grado y aumento de mitosis. Plantea el diagnóstico diferencial con sarcoma pleomórfico indiferenciado (ausencia de diferenciación celular con marcadores inmunohistoquímicos, diagnóstico de exclusión una vez se han descartado las entidades que se plantean en el diagnóstico diferencial).

Las células de Langerhans son inmunohistoquímicamente positivas para S-100, CD1a y langerina. En el 60 % de los casos se identifica mutación del gen BRAF (44).

**¿Cuándo sospecharlo?**

Imnfiltrado histiocitario con o sin atipia acompañado de abundantes leucocitos eosinófilos.

**Criterios esenciales**

Inmunofenotipo de célula de Langerhans (CD1a+, langerina+) en el contexto histológico/anatómico adecuado.

**Criterios Deseables/ ¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

En todos los casos es recomendable el análisis de mutaciones de la vía MAPK

## 7.11. SARCOMA DE CÉLULAS DENDRÍTICAS FOLICULARES

El sarcoma de células dendríticas se puede presentar en cualquier tejido rico en tejido linfoide, y puede confundirse con tumores de partes blandas. Es frecuente en adultos jóvenes y adultos de mediana edad, localizado en tracto gastrointestinal y retroperitoneo. Histológicamente está constituido por células ovoides o fusiformes, con cromatina vesicular, pequeño nucleolo y citoplasma mal definido. Las células se disponen con patrón estoriforme o fascicular. Algunos tumores pueden presentar morfología epitelioide, ocasionales células gigantes multinucleadas y células pleomórficas. Se acompañan de abundantes linfocitos y células plasmáticas.

Las céulas neoplásicas son inmunohistoquímicamente positivas para marcadores de células dendríticas como CD21, CD23 y/o CD35, y también para clusterina y D2-40 (45).

La variante pseudotumor inflamatorio-like del sarcoma de células dendríticas muestra positividad para la hibridación in situ del mRNA del virus Epstein-Barr (EBERs) (46).

El **diagnóstico diferencial** se plantea con tumores del estroma gastrointestinal (GIST) (positividad para c-Kit y DOG-1), liposarcoma desdiferenciado (positividad para MDM2 y/o amplificación del gen MDM2) y tumor miofibroblástico inflamatorio (positividad para α actina, y para ALK en el 50 % de los casos y negatividad para CD21, CD23 y/o CD35, con ausencia de EBER).

**¿Cuándo sospecharlo?**

Proliferación de células fusiformes o epitelioides con citoplasma abundante y núcleo vesicular, acompañadas de linfocitos y células plasmáticas.

**Criterios esenciales**

Positividad para dos o más marcadores de células dendríticas (CD21, CD23 y/o CD35), con presencia de clusterina y D2-40.

**Criterios Deseables/ ¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

No hay ninguna determinación molecular útil para el diagnóstico.

**MIOFIBROBLASTOMA INTRANODAL EN EMPALIZADA**

El miofibroblastoma en empalizada intranodal es una neoplasia benigna del músculo liso/estroma miofibroblástica que se origina en los ganglios linfáticos. Se presenta en adultos entre 45-55 años de edad. Los ganglios linfáticos inguinales son los principales afectados, y muy raramente ganglios axilares, cervicales, submandibulares, paraesofágicos, retroperitoneales y mediastínicos.

Los nódulos tumorales están compuestos por fascículos cortos entre moderada y altamente celulares, que son focalmente similares a la fibromatosis, y células fusiformes formando pequeñas empalizadas o con patrón estoriforme, en relación a tractos cortos fibroesclerosos o vasos con pared gruesa hialinizada. Se observan también acúmulos densos de colágeno de forma variable, en los que las células tumorales pueden mostrar una empalizada nuclear vaga. Las células tumorales tienen un citoplasma escaso y ligeramente eosinofílico. En ocasiones el estroma es fibromixoide con eritrocitos extravasados y/o hemosiderina.

Las células neoplásicas muestran positividad variable para α actina, desmina, h-caldesmon y calponina. El índice de proliferación Ki-67 es < 5 %. El tumor es negativo para citoqueratinas, S100, marcadores de células dendríticas foliculares (CD21, CD23, CD35), marcadores vasculares (ERG, CD31 y CD34) y herpes virus 8 (HHV8).

El **diagnóstico diferencial** se plantea con schwannoma (raro en ganglios linfático; positividad para S-100 y SOX10, y negatividad para α actina), sarcoma de Kaposi (asociado a historia de inmunosupresión; positividad para CD31, ERG, D2-40 y herpes virus 8) y metástasis de leiomiosarcoma (antecedente y/o masa en partes blandas; positividad para α actina, desmina y h-caldesmon), carcinoma fusocelular (positividad para queratina) y melanoma fusocelular (positividad para algunos de los marcadores melánicos: S-100, SOX-10, HMB-45 y/o melan-A) (65).

**¿Cuándo sospecharlo?**

Proliferación fusocelular con crecimiento fascicular intraganglionar sin atipia.

**Criterios esenciales**

Positividad para marcadores de músculo liso (α actina, h-caldesmon y calponina) y de forma variable para desmina, podoplanina y β catenina nuclear. Negatividad para citoqueratinas, S-100, marcadores de células dendríticas foliculares, marcadores vasculares y herpes virus 8.

En casos de diagnóstico diferencial complejo con lesiones leiomiosarcomatosas, la ausencia de primario en otra localización sería un criterio determinante.

**Criterios Deseables/ ¿Cuándo es importante confirmar el diagnóstico molecularmente?**

No hay ninguna determinación molecular útil para el diagnóstico.

**Bibliografía**


1. WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone. 5th ed. Lyon: IARC Press; 2020.
2. Ray-Coquard I, Montesco MC, Coindre JM, Dei Tos AP, Lurkin A, et al. Sarcoa: concordance between initial diagnosis and centralized expert review in a population-based study within three European regions. Annals of Oncology 2012. 23(9): 2442-2449. doi.org/10.1093/annonc/mdr610
3. Lu L, Lao IW, Liu X, Yu L, Wang J. Nodular fasciitis: a retrospective study of 272 cases from China with clinicopathologic and radiologic correlation. Ann Diagn Pathol. 2015 Jun;19(3):180-5. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2015.03.013. Epub 2015 Apr 6. PMID: 25890487.
4. De Feraudy S, Fletcher CD. Intradermal nodular fasciitis: a rare lesion analyzed in a series of 24 cases. Am J Surg Pathol. 2010 Sep;34(9):1377-81. doi: 10.1097/PAS.0b013e3181ed7374. PMID: 20716998.
5. Rosa G, Billings SD. A report of three cases of pediatric proliferative fasciitis. J Cutan Pathol. 2014 Sep;41(9):720-3. doi: 10.1111/cup.12361. Epub 2014 Jun 16. PMID: 24863876.
6. Bautista MJ, Perumal B, Jones DM, Meyer DR. Proliferative Fasciitis of the Orbit. Ophthalmic Plast Reconstr Surg. 2017 May/Jun;33(3S Suppl 1):S151-S152. doi: 10.1097/IOP.0000000000000532. PMID: 26226235.
7. Enzinger FM, Dulcey F. Proliferative myositis. Report of thirty-three cases. Cancer. 1967 Dec;20(12):2213-23. doi: 10.1002/1097-0142(196712)20:12<2213::aid-cncr2820201223>3.0.co;2-l. PMID: 6073898.
8. el-Jabbour JN, Bennett MH, Burke MM, Lessells A, O'Halloran A. Proliferative myositis. An immunohistochemical and ultrastructural study. Am J Surg Pathol. 1991 Jul;15(7):654-9. doi: 10.1097/00000478-199107000-00006. PMID: 2058761.
9. Lehmer LM, Moore JB, Ragsdale BD. Ischemic fasciitis: enhanced diagnostic resolution through clinical, histopathologic and radiologic correlation in 17 cases. J Cutan Pathol. 2016 Sep;43(9):740-8. doi: 10.1111/cup.12734. Epub 2016 Jun 1. PMID: 27161342.

10. Orava S, Sinikumpu JJ, Sarimo J, Lempainen L, Mann G, Hetsroni I. Surgical excision of symptomatic mature posttraumatic myositis ossificans: characteristics and outcomes in 32 athletes. Knee Surg SportsTraumatol Arthrosc. 2017 Dec;25(12):3961-3968. doi: 10.1007/s00167-017-4667-7. Epub 2017 Aug 5. PMID: 28780628.

11. Lee KR, Park SY, Jin W, Won KY. MR imaging and ultrasonography findings of early myositis ossificans: a case report. Skeletal Radiol. 2016 Oct;45(10):1413-7. doi: 10.1007/s00256-016-2441-4. Epub 2016 Aug 10. PMID: 27511030.

12. Konishi E, Kusuzaki K, Murata H, Tsuchihashi Y, Beabout JW, Unni KK. Extraskeletal osteosarcoma arising in myositis ossificans. Skeletal Radiol. 2001 Jan;30(1):39-43. doi: 10.1007/s002560000298. PMID: 11289633.

13. Sukov WR, Franco MF, Erickson-Johnson M, Chou MM, Unni KK, Wenger DE, Wang X, Oliveira AM. Frequency of USP6 rearrangements in myositis ossificans, brown tumor, and cherubism: molecular cytogenetic evidence that a subset of «myositis ossificans-like lesions» are the early phases in the formation of soft-tissue aneurysmal bone cyst. Skeletal Radiol. 2008 Apr;37(4):321-7. doi: 10.1007/s00256-007-0442-z. Epub 2008 Feb 12. PMID: 18265974.

14. de Saint Aubain Somerhausen N, Geurde B, Couvreur Y. Perineal nodular induration: the 'third testicle of the cyclist', an under- recognized pseudotumour. Histopathology. 2003 Jun;42(6):615-6. doi: 10.1046/j.1365-2559.2003.01592.x. PMID: 12786900.

15. Pantanowitz L, Moses AV, Früh K. CD31 immunohistochemical staining in Kaposi Sarcoma. Arch Pathol Lab Med. 2012 Nov;136(11):1329

16. Gardner JM. Survival Guide to Dermatopathology. Maryland: Innovative Science Press; 2019.

17. Szczepanski JM, Lieberman JA, Lamps LW, et al. Histologic Features of Mycobacterial Spindle Cell Pseudotumors: A Multi-institutional Clinicopathologic Analysis of 14 Cases. Am J Surg Pathol. 2024;48(7):890-900.

18. Goldblum JR, Weiss SW, Folpe AL. Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors. 7th Edition. Elsevier - OHCE; 2019.

19. Montgomery EA, Shuster DD, Burkart AL, et al. Inflammatory myofibroblastic tumors of the urinary tract: a clinicopathologic study of 46 cases. Am J Surg Pathol. 2006;30:1502-1512.

20. Young RH. Pseudotumors of the urinary bladder. Int J Surg Pathol. 2010;18:101S-105S.

21. Pekmezci M, Reuss DE, Hirbe AC, et al. Morphologic and immunohistochemical features of malignant peripheral nerve sheath tumors and cellular schwannomas. Mod Pathol. 2015;28(2):187-200.

22. Chen BJ, Mariño-Enríquez A, Fletcher CD, Hornick JL. Loss of retinoblastoma protein expression in spindle cell/pleomorphic lipomas and cytogenetically related tumors: an immunohistochemical study with diagnostic implications. Am J Surg Pathol. 2012;36(8):1119-28.

23. Reid JD, Kommareddi S, Lankerani M, Park MC. Chronic expanding hematomas. A clinicopathologic entity. JAMA. 1980 Nov 28;244(21):2441-2. PMID: 6448929.

24. Montgomery EA, Ware AD, Gardner JM. Survival Guide to Soft Tissue Pathology. Arlington, VA: Innovative Pathology Press; 2019.

25. Clay MR, Martinez AP, Weiss SW, Edgar MA. MDM2 Amplification in Problematic Lipomatous Tumors: Analysis of FISH Testing Criteria. Am J Surg Pathol 2015;39:1433-1439.

26. Buehler, D., Patel, R.M., Billings, S.D. (2019). Mimics of Cutaneous Mesenchymal Tumors. In: Billings, S., Patel, R., Buehler, D. (eds) Soft Tissue Tumors of the Skin. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8812-9_3

27. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Skin tumours [Internet; beta version ahead of print]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2023 [cited YYYY Mmm D]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 12). Available from: https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/64

28. Agaimy A, Specht K, Stoehr R, Lorey T, Märkl B, Niedobitek G, Straub M, Hager T, Reis AC, Schilling B, Schneider-Stock R, Hartmann A, Mentzel T. Metastatic malignant melanoma with complete loss of differentiation markers (undifferentiated/dedifferentiated melanoma): analysis of 14 patients emphasizing phenotypic plasticity and the value of molecular testing as surrogate diagnostic marker. Am J Surg Pathol. 2016;40(2):181–91.

29. Elsensohn A, Shiu J, Grove N, Hosking AM, Barr R, de Feraudy S. Distinguishing Neurofibroma from desmoplastic melanoma: the value of p53. Am J Surg Pathol. 2018;42(3):372–5

30. Shain AH, Garrido M, Botton T, Talevich E, Yeh I, Sanborn JZ, Chung J, Wang NJ, Kakavand H, Mann GJ, Thompson JF, Wiesner T, Roy R, Olshen AB, Gagnon A, Gray JW, Huh N, Hur JS, Busam KJ, Scolyer RA, Cho RJ, Murali R, Bastian BC. Exome sequencing of desmoplastic melanoma identifies recurrent NFKBIE promoter mutations and diverse activating mutations in the MAPK pathway. Nat Genet. 2015 Oct;47(10):1194-9. doi: 10.1038/ng.3382. Epub 2015 Sep 7. PMID: 26343386; PMCID: PMC4589486.

31. Hrycaj SM, Szczepanski JM, Zhao L, Siddiqui J, Thomas DG, Lucas DR, Patel RM, Harms PW, Bresler SC, Chan MP. PRAME expression in spindle cell melanoma, malignant peripheral nerve sheath tumour, and other cutaneous sarcomatoid neoplasms: a comparative analysis. Histopathology. 2022 Dec;81(6):818-825. doi: 10.1111/his.14797. Epub 2022 Sep 28. PMID: 36102613; PMCID: PMC9828653

32. Hornick JL, Plaza JA, Mentzel T, Gru AA, Brenn T. PRAME Expression Is a Useful Tool in the Diagnosis of Primary and Metastatic Dedifferentiated and Undifferentiated Melanoma. Am J Surg Pathol. 2023 Dec 1;47(12):1390-1397. doi: 10.1097/PAS.0000000000002125. Epub 2023 Sep 19. PMID: 37727938

33. Saliba E., Bhawan J. Aberrant Expression of Immunohistochemical Markers in Malignant Melanoma: A Review. Dermatopathology. 2021;8(3):359-70, doi: 10.3390/dermatopathology8030040.

34. Gleason BC, Calder KB, Cibull TL, Thomas AB, Billings SD, Morgan MB, Hiatt KM, Smoller BR. Utility of p63 in the differential diagnosis of atypical fibroxanthoma and spindle cell squamous cell carcinoma. J Cutan Pathol. 2009 May;36(5):543-7. doi: 10.1111/j.1600-0560.2008.01099.x. Epub 2009 Mar 30. PMID: 19476522.

35. Hall JM, Saenger JS, Fadare O. Diagnostic utility of P63 and CD10 in distinguishing cutaneous spindle cell/sarcomatoid squamous cell carcinomas and atypical fibroxanthomas. Int J Clin Exp Pathol. 2008 Mar 7;1(6):524-30. PMID: 18787630; PMCID: PMC2480581.

36. Huey RW, Makawita S, Xiao L, Matamoros A, Estrella JS, Overman MJ, Varadhachary GR, Raghav K. Sarcomatoid carcinoma presenting as cancers of unknown primary: a clinicopathological portrait. BMC Cancer. 2019 Oct 17;19(1):965. doi: 10.1186/s12885-019-6155-6. PMID: 31623602; PMCID: PMC6796453.

37. Marku Miettinen. Diagnostic Soft Tissue Pathology. Pennsylvania: Churchill Livingstone; 2003.

38. J K Chan, R Buchanan, C D Fletcher. Sarcomatoid variant of anaplastic large-cell Ki-1 lymphoma. Am J Surg Pathol. 1990 Oct;14(10):983-8. doi: 10.1097/00000478-199010000-00013.

39. Fung DT, Chan JK, Tse CC, Sze WM. Myxoid change in malignant lymphoma. Pathogenetic considerations. Arch Pathol Lab Med. 1992 Jan;116(1):103-5.

40. C H Koo, S S Shin, F Bracho, W H Johnston, H Rappaport. Rosette-forming non-Hodgkin's lymphomas. Histopathology. 1996 Dec;29(6):557-63. doi: 10.1046/j.1365-2559.1996.d01-530.x.

41. Vikram Deshpande, Yoh Zen, John KC Chan, Eunhee E Yi, Yasuharu Sato, Tadashi Yoshino5 y col. Consensus statement on the pathology of gG4-related disease. Mod Pathol. 2012 Sep;25(9):1181-92. doi: 10.1038/modpathol.2012.72.

42. E D Remstein, P J Kurtin, A G Nascimento. Sclerosing extramedullary hematopoietic tumor in chronic myeloproliferative disorders. Am J Surg Pathol. 2000 Jan;24(1):51-5. doi: 10.1097/00000478-200001000-00006.

43. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Haematolymphoid tumours [Internet]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2024. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11: Histiocytic/macrophage cell neoplasms). Available from: https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63.

44. Jason L Hornick, Elaine S Jaffe, Christopher D M Fletcher. Extranodal histiocytic sarcoma: clinicopathologic analysis of 14 cases of a rare epithelioid malignancy. Am J Surg Pathol. 2004 Sep;28(9):1133-44. doi: 10.1097/01.pas.0000131541.95394.23.

45. Jinru Shia, Wen Chen, Laura H Tang, Diane L Carlson, Jin Qin, Jose G Guillem, y col. Extranodal follicular dendritic cell sarcoma: clinical, pathologic, and histogenetic characteristics of an underrecognized disease entity. Virchows Arch. 2006 Aug;449(2):148-58. doi: 10.1007/s00428-006-0231-4. Epub 2006 Jun 7.

46. W Cheuk, J K Chan, T W Shek, J H Chang, M H Tsou, N W Yuen, W F Ng, A C Chan, J Prat. Inflammatory pseudotumor-like follicular dendritic cell tumor: a distinctive low-grade malignant intra-abdominal neoplasm with consistent Epstein-Barr virus association. Am J Surg Pathol. 2001 Jun; 25(6):721-31. doi: 10.1097/00000478-200106000-00003.

47. Mathew R. Lindberg. Diagnostic Pathology Soft Tissue Tumors, fourth Ed. Elsevier. Philadelphia; 2024:164-165.

# Diagnóstico molecular en tumores de partes blandas: claves para un diagnóstico preciso y personalizado

**Carmen Salguero Aranda[1], Juan Díaz Martín[1], Marta Sese[2], Enrique de Álava[1,3], Empar Mayordomo Aranda[4] y Cleofé Romagosa[2,5]**

1. *Hospital Universitario Virgen del Rocio. Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS), Sevilla*
2. *Hospital Universitario Vall d'Hebron. Institut de Recerca Vall d'Hebron (VHIR), Barcelona*
3. *Universidad de Sevilla*
4. *Hospital La Fe. Valencia*
5. *Universidad Autónoma de Barcelona*

## INTRODUCCIÓN: ¿PARA QUÉ Y POR QUÉ SON NECESARIAS LAS PRUEBAS MOLECULARES EN EL DIAGNÓSTICO DE SARCOMAS?

En un número creciente de tipos de cáncer, las técnicas moleculares se emplean para identificar alteraciones genéticas diana, que pueden ser utilizadas como herramientas terapéuticas. No obstante, en el caso de los sarcomas, las dianas terapéuticas sólo se detectan en una minoría de los casos, y en la mayoría de ellos no son aplicables en el tratamiento de primera línea. En estos tumores, los factores más relevantes para determinar el enfoque terapéutico son un diagnóstico preciso y la clasificación del grado histológico.

El diagnóstico y la determinación del grado histológico en la mayoría de los tumores se efectúan mediante técnicas histológicas e inmunohistoquímicas, sin la necesidad de recurrir a métodos moleculares. Sin embargo, los sarcomas constituyen un grupo peculiar de tumores malignos, caracterizados por su baja prevalencia, representando solo el 1 % de los casos de cáncer, lo que los convierte en una enfermedad rara. Además, dentro de esta pequeña proporción, existen más de 80 entidades distintas [1], lo que convierte a muchas de ellas en enfermedades ultra-raras. Dado que los patólogos realizan el diagnóstico a partir del reconocimiento de patrones, la propia naturaleza heterogénea de estos tumores dificulta el diagnóstico en un alto porcentaje de los casos.

Por otro lado, en las últimas décadas, se han identificado alteraciones moleculares «driver» en más de la mitad de los sarcomas, así como en otros tumores mesenquimales benignos que forman parte del diagnóstico diferencial [2, 3]. A diferencia de los carcinomas, se sabe que los sarcomas presentan un número relativamente bajo de mutaciones puntuales, pero presentan translocaciones genéticas y alteraciones en el número de copias con alta frecuencia [3-5].

Existen también fenómenos de redundancia e inespecificidad en las alteraciones moleculares observadas en los diferentes tipos de sarcomas. Es frecuente que un mismo tipo de sarcoma exhiba múltiples alteraciones moleculares, y viceversa, que varios tipos de tumores benignos o malignos presenten una misma alteración molecular, aunque en contextos morfológicos, pronósticos y terapéuticos significativamente distintos. Por lo tanto, las determinaciones moleculares, por sí solas, rara vez son diagnósticas y deben ser interpretadas por patólogos con experiencia en este campo.

Dichos patólogos son quienes podrán guiar el diagnóstico y seleccionar de manera costo-efectiva las pruebas moleculares necesarias, integrando los resultados moleculares con la información clínica, morfológica e inmunohistoquímica, lo que es esencial para llegar a un diagnóstico preciso en estos tumores [6, 7].

## ALTERACIONES MOLECULARES FRECUENTES EN TUMORES DE PARTES BLANDAS

Las alteraciones moleculares detectadas en sarcomas, son, como ya hemos comentado, distintas a las observadas en carcinomas. Esto implica que necesitemos herramientas específicas para el diagnóstico molecular de los sarcomas y que por lo tanto su implementación sea coste-efectiva sólo en centros con alto volumen de sarcomas.

Desde un punto de vista molecular, los sarcomas se han clasificado entre sarcomas asociados a translocaciones cromosómicas, que generan genes de fusión (GF) oncogénicos, y sarcomas de cariotipo complejo [4]:

- Los **sarcomas asociados a translocaciones** suelen ser neoplasias con poca alteración a nivel cariotípico y suelen tener la translocación como evento «driver», lo que conlleva que presenten una celularidad monótona, sin pleomorfismo y muchas veces índices proliferativos bajos. Estos tumores son más frecuentes en niños, adolescentes y adultos jóvenes. Ejemplos de este tipo de sarcomas son el sarcoma sinovial, sarcoma de Ewing, sarcoma alveolar de partes blandas, etc…
- Por otro lado, **los sarcomas de cariotipo complejo,** presentan multitud de alteraciones moleculares que incluyen sobre todo cambios en el número de copias de los genes y reordenamientos. Estos tumores suelen tener un aspecto pleomórfico y es muy difícil determinar cuál es el evento molecular «driver» de los mismos. Ejemplos de este tipo de sarcomas son el Leiomiosarcoma, liposarcoma pleomórfico o el sarcoma pleomórfico indiferenciado entre otros.

Las alteraciones más frecuentemente observadas en sarcomas son translocaciones y alteraciones en el número de copias (amplificaciones o deleciones). Sin embargo, a pesar de que las mutaciones puntuales son eventos mucho menos frecuentes, en ocasiones tienen cierta importancia y esto abre la puerta a que a veces utilicemos herramientas diseñadas para el diagnóstico de carcinomas en sarcomas, por ejemplo, las mutaciones de β-catenina en la fibromatosis desmoide o de GNAs en el mixoma intramuscular.

En la Tabla 1 se pueden ver las alteraciones moleculares más frecuentemente utilizadas para el diagnóstico de los sarcomas.

**Tabla 1**. Alteraciones moleculares con utilidad diagnóstica en sarcomas vinculadas a las técnicas adecuadas para el diagnóstico molecular de sarcomas.

| TIPO TUMORAL | ALTERACIÓN | TÉCNICA MOLECULAR | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | IHQ | FISH | RT-PCR | Targeted RNA-Seq | PCR-Sanger | Targeted DNA-Seq |
| **TUMORES ADIPOCÍTICOS** | | | | | | | |
| Lipoma | Fusión HMGA2 | | | | X | | |
| Lipoblastoma | Fusión PLAG1 | | | | X | | |
| Lipoma Fusocelular/Pleomórfico | Pérdida de Rb | | X | | | | X |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Liposarcoma bien diferenciado | Amplificación de MDM2 y CDK4 | X | X | | | | X |
| Liposarcoma desdiferenciado | Amplificación de MDM2 y CDK4 | X | X | | | | X |
| Liposarcoma mixoide | Fusión DDIT3 | X | X | | X | | |
| Liposarcoma Pleomorfico Mixoide | Pérdida de fusión: FUS/EWSR1::DDIT3<br>Inactivación *RB1* | X | X | | X | | X |
| **TUMORES FIBROBÁSTICOS Y MIOFIBROBLÁSTICOS** | | | | | | | |
| Fascitis nodular | Fusión USP6 | | X | | X | | |
| EWSR1-SMAD3-positive fibroblastic tumour | EWSR1::SMAD3 | | | | X | | |
| Fibromatosis Desmoide | 90-95 % mutación CTNNB1<br>APC | X | | | | X | X |
| Tumor Fibroso Solitario | NAB2::STAT6 | X<br>(STAT6) | | | X | | |
| Tumor Miofibroblástico Inflamatorio | TPM3::ALK<br>TPM4::ALK<br>CLTC::ALK<br>ROS1::YWHA<br>ROS1::TFG1 | | X | | X | | |
| Sarcoma Epitelioide Miofibroblástico Inflamatorio | RANBP2::ALK<br>RRBP1::ALK | | | | X | | |
| Sarcoma Fibromixoide de bajo grado | FUS::CREB3L2(>90 %)<br>FUS::CREB3L1<br>EWSR1::CREB3L1<br>YAP1::KMT2A (en MUC4 -) | | | | X | | |
| Fibrosarcoma epiteloide esclerosante | EWSR1::CREB3L1 (80-90 %)<br>YAP1::KMT2A (en MUC4 -) | | | | X | | |
| Fibrosarcoma infantil | ETV6::NTRK3<br>EML4::NTRK3 | | | | X | | |
| Sarcoma Fibroblástico Mixoinflamatorio | TGFBR3::OGA(MGEA5) | | X | | | | |
| Dermatofibrosarcoma Protuberans | COL1A::PDGFRB (mayoritario)<br>COL6A3::PDGFD<br>EMILIN2::PDGFD | | X | X | X | | |
| **SARCOMAS VASCULARES** | | | | | | | |
| Hemangioma epiteloide | FOS::VIM<br>FOS::LMNA<br>FOS::VIM<br>ZFP36::FOSB<br>WWTR1::FOSB | | | | X | | |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Hemangioendotelioma pseudomiogénico | SERPINE1::FOSB<br>ACTB::FOSB | | X | | X | | |
| Hemangioendotelioma epiteloide | WWTR1::CAMTA1 (85-90 %)<br>YAP1::TFE3 (5 %) | | X | | X | | |

| **TUMORES MUSCULOESQUELÉTICO** | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Rabdomiosarcoma alveolar | PAX3::FOXO1 (70-90 %)<br>PAX7::FOXO1 (10-30 %) | | X | X | X | | |
| Rabdomiosarcoma fusocelular | SRF::NCOA2<br>TEAD1::NCOA2<br>VGLL2::NCOA2<br>VGLL2::CITED2 | | X | | X | | |
| Rabdomiosarcoma fusocelular/ esclerosante | MYOD1 | | | | | X | X |
| Rabdomiosarcoma intraóseo | EWSR1/FUS::TFCP2 | | X | | X | | |

| **TUMORES DE NERVIO PERIFÉRICO** | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Tumor maligno de vaina de nervio periférico | Inactivación de NF1 y CDKN2a<br>Inactivación de componentes PRC2 | | | | | | X |
| Tumor maligno de vaina de nervio periférico epitelial | Inactivación de SMARCB1 | X | X | | | | |
| Tumor maligno melanocítico de nervio periférico | PRKAR1A inactivación | X | | | | | |

| **TUMORES DIFERENCIACIÓN INCIERTA** | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Sarcoma sinovial | SS18::SSX1/SSX2/SSX4<br>Fusión SS18L1::SSX1 (rara)<br>EWSR1::SSX1<br>MN1::SSX1 | X | X | X | X | | |
| Sarcoma epiteloide | Inactivación SMARCB1 | X | X | | | | |
| Tumor rabdoide extrarrenal | Inactivación SMARCB1 | X | X | | | | |
| Sarcoma alveolar | ASPSCR1::TFE3 | | X | | X | | |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Sarcoma desmoplásico de célula redonda | EWSR1::WT1 | | X | X | X | | |
| Sarcoma intimal | MDM2 amplificación<br>PDGFRA amplificación | | X | | | X | |
| Tumor Fibrolipomatoso hemosiderótico | Reordenamientos de TGFBR3 y / o OGA (MGEA5) | | X | | X | | |
| Histiocitoma Fibroso Angiomatoide | EWSR1::CREB1 (>90 %)<br>EWSR1::ATF1<br>FUS::ATF1 | | X | | X | | |
| Tumor Fibromixoide Osificante | EP400::PHF1<br>MEAF6::PHF1<br>EPC1::PHF1<br>PHF1::TFE3<br>Fusiones con BCOR / BCORL1 / CREBBP / KDM2A (raras) | | | | X | | |
| Mioepitelioma/Carcinoma mioepitelial | EWSR1:: POU5F1/PBX1<br>EWSR1::ZNF444/KLF17/ATF1/PBX3<br>Fusions con FUS (ocasionales)<br>Reordenamiento PLAG1 (Tumores mixtos con diferenciación ductal) | | X | | X | | |
| Neoplasia Fusocelular con Reordenamiento de NTRK y otras quinasas | Fusiones NTRK1/2/3<br>Fusiones BRAF<br>Fusiones RAF1 | X | | | X | | |
| Sarcoma de células claras | EWSR1::ATF (70–90 % de clos casos)<br>EWSR1::CREB1<br>CRTC1-TRIM11 (rara) | | X | | X | | |
| Condrosarcoma Mesenquimal | HEY1::NCOA2 | | | X | X | | |
| Condrosarcoma Mixoide Extraesquelético | EWSR1 / TAF15::NR4A3 (> 90 % de los casos)<br>TCF12::NR4A3<br>TFG::NR4A3 | | X | | X | | |
| PEComa | Mutaciones o Pérdida TSC1/TSC2<br>TFE3::SFPQ (rara)<br>DVL2-TFE3 (rara)<br>NONO-TFE3 (rara) | | | | X | | X |
| Tumor Pleomorfico Angiectatico Esclerosante | Reordenamientos de TGFBR3 y / o OGA (MGEA5) | | X | | | | |
| Angiomixoma profundo | Reordenamiento HMGA2 | | X | | | | |
| Myxoma intramuscular | GNAS | | | | | X | X |
| Angiofibroma de partes blandas | AHRR::NCOA2 | | | X | X | | |
| Phosphaturic mesenchymal tumor (PMT) | FN1::FGFR1 | | | | X | | |

| **SARCOMAS INDIFERENCIADOS DE CÉLULA REDONDA** | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Sarcoma de Ewing | EWSR1::FLI1 (85-90 %)<br>EWSR1:ERG (5-10 %)<br>EWSR1::FEV<br>EWSR1::ETV1<br>EWSR1::ETV4<br>Fusión FUS | | X | X | X | | |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Sarcoma de célula redonda con fusión EWSR1- no ETS | EWSR1/FUS::NFATC2<br>EWSR1::PATZ1 | | X | | X | | |
| Sarcoma con Reordenamiento de CIC | CIC::DUX4 (95 %)<br>CIC::FOXO4<br>CIC::LEUTX<br>CIC::NUTM1<br>CIC::NUTM2A | | X | X | X | | |
| Sarcoma con Reordenamiento BCOR | BCOR::CCNB3<br>BCOR::MAML3<br>BCOR::ZC3H7B<br>YWHAE::NUTM2B (rara)<br>BCOR-ITD | | X | X | X | X<br>(BCOR-ITD) | |

| **OTROS TUMORES DE PARTES BLANDAS** | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Tumor del estroma gastrointestinal | KIT<br>PDGFRA | | | | | X | X |
| Sarcomas del estroma endometrial de bajo grado | JAZF1::SUZ12<br>JAZF1::PHF1<br>EPC1::PHF1<br>MEAF6::PHF1<br>MBTD1::EZHIP (rara)<br>BRD8::PHF1 (rara)<br>EPC2::PHF1 (rara)<br>EPC1::SUZ12 (rara) | | | | X | | |
| Sarcomas del estroma endometrial de alto grado | YWHAE::NUTM2A/B<br>ZC3H7B::BCOR<br>BCOR ITD<br>EPC1::BCOR (rara)<br>JAZF1::BCORL1 (rara)<br>BRD8::PHF1 (rara)<br>ESR1::CITED2<br>GTF2A1::NCOA2 | | | | X | X<br>(BCOR-ITD) | |
| Tumor uterino que recuerda a los tumores de los cordones sexuales del ovario (UTROSCT) | ESR1 / GREB1:: NCOA1 / NCOA2 / NCOA3 / CTNNB1 / NR4A3 / SS18<br>ESR1::CITED2<br>GTF2A1::NCOA2 | | | | X | | |
| Sarcoma Nasosinusal Bifenotipico | PAX3::MAML3 (mayoritaria)<br>PAX3::NCOA1/NCOA2/FOXO1/WWTR1 | | | | X | | |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Tenosynovial giant cell tumor (TGCT) | COL6A3::CSF1 | | | | X | | |
| Sarcoma renal de células claras | BCOR ITD<br>YWHAE::NUTM2<br>BCOR::CCNB3 | | | | X | X<br>(BCOR-ITD) | |
| **NUEVAS ENTIDADES** | | | | | | | |
| GLI amplicado o reordenado | Fusiones GLI1<br>Amplificación GLI1 | | | | X | | X |
| Neoplasia mesenquimal condroide calcificada | Fusiones FN1 | | | | X | | |
| Neoplasias malignas con fusión NUTM1 | Fusiones NUTM1<br>(MXD4::NUTM1, BRD4::NUTM1) | | | | X | | |
| Sarcoma Pseudoendocrino | Mutaciones de CTNNB1 | X | | | | X | X |

## TÉCNICAS MOLECULARES DE RUTINA PARA EL DIAGNÓSTICO EN SARCOMAS

Dentro de los tipos de alteraciones comunes en el diagnóstico molecular de los tumores de partes blandas están:

- Las ganancias y amplificaciones o pérdidas y deleciones génicas (CNV, *Copy Number Variation*). La técnica Gold standard para la detección de alteraciones en el número de copias es la FISH, aunque para determinados casos, la IHQ es una buena opción. La secuenciación masiva (NGS) dirigida nos permitirá detectar amplificaciones de genes o pequeñas regiones.
- Alteraciones SNV/INDEL
  Las alteraciones de cambio nucleotídico (SNV, *Single Nucleotide Variation*) o las pequeñas deleciones o inserciones en un gen (INDEL), se pueden determinar mediante PCR-secuenciación Sanger, PCR a tiempo real (qPCR) o bien mediante NGS.
- Translocaciones cromosómicas
  Para el análisis de **fusiones génicas y otros reordenamientos génicos** las técnicas *Gold Standard* son la RT-PCR y la FISH [8].

En la Tabla 1 se muestran todas las alteraciones descritas para cada entidad, así como las técnicas diagnósticas adecuadas para cada una de ellas. A continuación, se describirán en más detalle las técnicas asociadas para la determinación de estas alteraciones.

### Inmunohistoquímica (IHQ)

La IHQ es una técnica rápida, relativamente económica y ampliamente disponible en los laboratorios de anatomía patológica.

La IHQ se basa en detectar la consecuencia en la expresión proteica de eventos genómicos mediante el uso de anticuerpos específicos contra la proteína de interés. Por tanto, permite detectar fusiones génicas (la categoría más grande de alteraciones recurrentes en sarcomas), así como amplificaciones, deleciones, SNV y metilación aberrante [9]. En la Tabla 2 se muestra un resumen de marcadores inmunohistoquímicos indirectos para la detección de alteraciones genéticas en sarcomas (Tabla 2).

La IHQ ha evolucionado y sigue manteniéndose a la vanguardia del diagnóstico de los sarcomas, no obstante, su interpretación debe complementarse con técnicas moleculares cuando se requiere mayor precisión [9]. Por ejemplo, la inactivación de SMARCB1 es característica de tumores como el rabdoide, sarcoma epitelioide y ciertos sarcomas indiferenciados, y suele detectarse mediante IHQ (pérdida de expresión de INI1). Sin embargo, la IHQ no permite distinguir entre si la pérdida de expresión es debida a deleción del gen, pérdida de heterocigosidad de INI1, mutación puntual de pérdida de función o bien una regulación epigenética de su expresión [10]. Para discernir entre las causas de pérdida de INI1 haría falta realizar técnicas alternativas que permiten detectar CNVs tales como el FISH o las plataformas de NGS.

Tal y como ya se ha mencionado, algunas fusiones génicas pueden ser detectadas mediante IHQ, la cual detecta el nivel de expresión de la proteína, que si se observa sobreexpresada se atribuye a presencia de fusión génica. Por tanto, en este caso se utilizan anticuerpos dirigidos contra las proteínas de fusión resultantes, como por ejemplo el anticuerpo SS18-SSX (EPR12802) para el diagnóstico del sarcoma sinovial, o contra los extremos específicos de las proteínas implicadas en la translocación, como por ejemplo el anticuerpo pan-TRK (EPR17341, A7H6R) usado para detectar fusiones en las proteínas TRK en neoplasias derivadas de fusiones en los genes *NTRK1*, *NTRK2* y *NTRK3*.

**Tabla 2**. Anticuerpos disponibles para el diagnóstico molecular de sarcomas (adaptado de Anderson and Jo, 2021).

| Alteración | Anticuerpo | Tipo tumoral | Alteración molecular |
|---|---|---|---|
| **Fusión génica** | CCNB3 | Sarcoma con Reordenamiento BCOR | *Fusión BCOR-CCNB3* |
| | BCOR | Sarcoma con Reordenamiento BCOR | *Fusión BCOR-CCNB3* |
| | | Tumor mesenquimal mixoide primitivo de la infancia | *BCOR Duplicación interna en tándem (ITD)* |
| | | Sarcoma renal de células claras | *BCOR Duplicación interna en tándem (ITD)* |
| | WT1 C-terminal | Sarcoma desmoplásico de célula redonda | *Fusión EWSR1-WT1* |
| | PAX3/7-FOXO1 | Rabdomiosarcoma alveolar | *Fusión PAX3-FOXO1 (~80 %)*<br>*Fusión PAX7-FOXO1 (~20 %)* |
| | PAX3 | Sarcoma nasosinusal bifenotipico | *Fusiones PAX3* |
| | STAT6 | Tumor Fibroso Solitario | *Fusión NAB2-STAT6* |
| | ALK | Tumor Miofibroblástico Inflamatorio | *Fusiones ALK (~60 %)* |
| | ROS1 | Tumor Miofibroblástico Inflamatorio | *Fusiones ROS1 (<10 %)* |
| | Pan-Trk | Fibrosarcoma infantil | *Fusión ETV6-NTRK3* |
| | | Neoplasia Fusocelular con Reordenamiento de NTRK y otras quinasas | *Fusiones NTRK1/2/3* |
| | SS18-SSX | Sarcoma sinovial | *Fusión SS18-SSX1/2/4* |
| | CAMTA1 | Hemangioendotelioma epitelioide | *Fusión WWTR1-CAMTA1 (>90 %)* |
| | TFE3 | Sarcoma alveolar | *Fusión ASPSCR1-TFE3* |
| | | Hemangioendotelioma epitelioide | *Fusión YAP1-TFE3 (<10 %)* |
| | | PEComa | *Fusiones TFE3, Inactivación TSC1/TSC2* |
| | FOSB | Hemangioendotelioma pseudomiogénico | *Fusiones FOSB* |
| | | Hemangioma epitelioide | *Fusiones FOSB/FOS (~50 %)* |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | FOS | Osteoma osteoide, osteoblastoma | *Reordenamientos FOS (~90 %)* |
| | DDIT3 | Liposarcoma mixoide | *Fusión FUS-DDIT3* |
| **Amplificación** | MDM2/CDK4 | Liposarcoma bien diferenciado | Amplificación 12q13-15 (*MDM2/CDK4*) |
| | | Sarcoma Intimal | Amplificación 12q13-15 (*MDM2/CDK4*) |
| | | Osteosarcoma central de bajo grado y and Osteosarcoma parostal | Amplificación 12q13-15 (*MDM2/CDK4*) |
| **Inactivación** | SMARCB1 | Sarcoma epitelioide | *Inactivación SMARCB1* |
| | | Tumor rabdoide maligno | *Inactivación SMARCB1* |
| | | Tumor maligno de vaina de nervio periférico epitelial | *Inactivación SMARCB1* |
| | | Cordoma pobremente diferenciado | *Inactivación SMARCB1* |
| | SMARCA4 | Tumor torácico indifernciado deficiente en SMARCA4 | *Inactivación SMARCB4* |
| | | Sarcoma uterino deficiente en SMARCA4 | *Inactivación SMARCB4* |
| | SDHB | Tumor del estroma gastrointesinal | *Inactivación SDH* |
| | PRKAR1A | Tumor maligno melanocítico de nervio periférico | *Inactivación PRKAR1A* |
| **Marcador epigenético** | H3K27me3 | Tumor maligno de vaina de nervio periférico | *Inactivación NF1, SUZ12 or EED* |
| **SNV** | G34W | Tumor de células gigantes de hueso | *Muatciones: H3-3A (H3F3A): p.Gly34Trp (G34W) ~90 %* |
| | K36M | Condroblastoma | *Mutaciones: H3-3B (H3F3B): p.Lys36Met (K36M) ~95 %* |
| **Sobreexpresión** | NKX2.2 | Sarcoma de Ewing | *Fusión EWSR1-FLI1 (85 %)*<br>*Fusión EWSR1-ERG (10 %)*<br>*Fusión EWSR1-ETS*<br>*Fusión FUS-ETS* |
| | NKX3.1 | Condrosarcoma mesenquimal | *Fisión HEY1-NCOA2 (~100 %)* |
| | | Sarcoma de célula redonda con fusión EWSR1- no ETS | *Fusiones EWSR1-NFATC2 y FUS-NFATC2* |
| | WT1 y ETV4 | Sarcoma con Reordenamiento de CIC | *Fusión CIC-DUX4 (95 %)*<br>*Fusiones CIC-NUTM1, CIC-FOXO4, CIC-LEUTX* |
| | MUC4 | Sarcoma Fibromixoide de bajo grado | Fusión *FUS-CREB3L2*<br>Fusión *FUS-CREB3L1* |
| | DOG1 | Tumor del estroma gastrointesinal | *KIT, PDGFRA, SDH, BRAF* |

**Hibridación in situ Fluorescente (FISH)**

La FISH es una de las técnicas auxiliares más fiables, prácticas y comúnmente utilizada para la detección de anomalías cromosómicas en el diagnóstico molecular de sarcomas, especialmente aquellos con un cariotipo simple, incluidos los sarcomas con translocaciones o amplificaciones específicas [11].

Su fundamento se basa en el uso de sondas de ADN marcadas con fluorocromos que se hibridan de manera complementaria a la secuencia diana en células o tejidos previamente fijados. Tras un proceso de desnaturalización del ADN genómico y la sonda, seguido de la hibridación bajo condiciones controladas, las señales fluorescentes emitidas por las sondas permiten la visualización de las

alteraciones genéticas mediante microscopía de fluorescencia. La FISH puede aplicarse a muestras en diferentes formatos, incluidos extendidos cromosómicos, núcleos interfásicos y tejidos fijados en formalina e incluidos en parafina (FFPE), el tipo de muestras que utilizamos de forma universal en el trabajo diagnóstico patológico rutinario. La técnica FISH permite identificar alteraciones numéricas de regiones cromosómicas, amplificaciones génicas, deleciones de genes concretos y reordenamientos génicos.

Hay varios tipos de sondas marcadas dependiendo de la alteración genética que se pretende detectar [12, 13]:

- Sondas centroméricas (CEP, Centromeric Enumeration Probes) que detectan zonas centroméricas de cromosomas específicos y se utilizan para detectar aneuploidías, es decir, alteraciones en el número de copias de un cromosoma.
- Sondas de pintado cromosómico (WCP, Whole Chromosome Paint Probes) las cuales detectan todo un cromosoma específico y son útiles para identificar translocaciones cromosómicas equilibradas o desequilibradas y estudiar la arquitectura cromosómica en células tumorales.
- Sondas específicas de locus (LSI, Locus-Specific Identifier Probes) que detectan secuencias génicas concretas en el ADN y se emplean para identificar deleciones, amplificaciones o translocaciones génicas. Un ejemplo de este caso es la determinación de amplificación de los genes que se encuentran en la región 12q13-15 MDM2 y CDK4 en las neoplasias adipocíticas, ya que se ha visto que son característicos de liposarcomas bien diferenciados y desdiferenciados [14, 15].
- Sondas de fusión de genes (Fusion Probes) que hibridan en el punto de fusión entre dos genes, con lo cual detectan translocaciones cromosómicas específicas.
- Sondas de ruptura de genes (Break-Apart Probes) que están especialmente diseñadas para detectar rupturas en regiones específicas del ADN, valorando el grado de separación entre sondas, con lo cual son útiles cuando una translocación puede involucrar múltiples partners génicos. Se usan, por ejemplo, para detectar reordenamientos del gen EWSR1 en el sarcoma de Ewing.

Algunas ventajas de la FISH son:

- Se pueden analizar una o diferentes regiones de cromosomas en un único ensayo con el diseño de sondas marcadas con diferentes fluoróforos.
- Es una técnica rápida y económica
- Permite la visualización de la fusión génica en las células individuales del tumor, por lo tanto, es útil en tumores heterogéneos donde las fusiones génicas pueden estar presentes solo en algunas subpoblaciones de células. Ejemplo: En sarcomas como el sarcoma sinovial, la translocación *SS18::SSX* puede visualizarse en un subconjunto de células tumorales, lo que ayuda a confirmar la presencia de la fusión.

No obstante, la FISH presenta limitaciones:

- La evaluación de FISH es compleja en tumores de tejidos blandos debido a varios factores; heterogeneidad genómica del tumor, las alteraciones genéticas complejas, y la sensibilidad a factores experimentales. La interpretación requiere una gran experiencia, un entendimiento profundo de las características genómicas del tumor y, a menudo, confirmación con otras técnicas complementarias (como NGS o RT-PCR) para obtener una imagen más completa y precisa.
- Es eficaz sólo para detectar fusiones génicas previamente conocidas y para las cuales existen sondas específicas. No es adecuada para detectar fusiones génicas desconocidas o no documentadas.
- No se puede multiplexar. Un ejemplo sería el uso de la FISH de *BCOR* para el diagnóstico de sarcomas con reordenamiento *BCOR*. Podría suceder que el caso en concreto presentara la fusión *YWHAE::NUTM2B*, la cual se considera parte de la familia de tumores asociados a *BCOR* [16], y aunque existen sondas FISH para otras fusiones génicas descritas en esta entidad, como

por ejemplo fusiones *YWHAE*, éstas no serían detectadas en el ensayo con las sondas FISH de *BCOR*, habría que realizar por tanto varios FISH diferentes.

- Tiene limitaciones para detectar ciertos tipos de reordenamientos cromosómicos, como los **reordenamientos crípticos** o los que ocurren entre **genes adyacentes.**
    - Los reordenamientos crípticos son aquellos que no implican grandes cambios estructurales visibles en el cariotipo o que ocurren en distancias pequeñas dentro del ADN. En el caso de *EWSR1::ERG*, la translocación t(21;22)(q22;q12) ocurre en el sarcoma de Ewing, pero puede ser difícil de detectar por FISH debido a:
        - Distancia corta entre los puntos de ruptura: Si la separación entre los genes fusionados es mínima, las sondas de FISH de separación (*break-apart*) pueden seguir apareciendo cercanas, lo que da un falso negativo.
        - Reorganización intracompleja: Algunos reordenamientos pueden involucrar inserciones o inversiones que no generan el patrón clásico de FISH de separación o fusión.
        - Uso de sondas inadecuadas: A veces, los kits comerciales están diseñados para detectar la fusión más frecuente (*EWSR1::FLI1* en lugar de *EWSR1::ERG*), lo que puede llevar a errores de detección.
    - Reordenamientos en genes adyacentes (como *NAB2::STAT6*)
        - Este caso es común en tumores con fusiones dentro del mismo cromosoma, como en el tumor fibroso solitario, donde *NAB2* y *STAT6* están en el cromosoma 12 y muy cercanos entre sí.
        - FISH no detecta bien fusiones en genes adyacentes porque usa sondas diseñadas para detectar grandes separaciones o fusiones visibles. Si el reordenamiento ocurre dentro de una región muy corta, las señales de FISH no se separan lo suficiente para ser detectadas como positivas.
        - La tecnología de FISH es más efectiva en translocaciones entre cromosomas diferentes, donde la separación física de los genes es mayor y más evidente.

**RT-PCR**

La RT-PCR es una técnica de biología molecular que utiliza la transcripción inversa para convertir las moléculas de ARN a ADNc, seguida de una PCR para detectar y caracterizar transcritos genéticos resultantes de eventos de fusión entre dos genes. Esta técnica emplea cebadores específicos diseñados para unirse a las regiones adyacentes de los genes implicados en la fusión; un cebador en el gen a 5 prima de la fusión y otro cebador que se une al gen situado a 3 prima de la fusión. En el caso que la fusión de interés esté presente en la muestra, el producto amplificado se analiza mediante electroforesis en gel.

La RT-PCR para la detección de fusiones génicas tiene una alta sensibilidad y especificidad, es económica y rápida, aunque será una técnica de elección solo para fusiones conocidas. Por tanto, la RT-PCR será útil para confirmación de fusiones detectadas por otras técnicas o bien para determinar la presencia de fusiones en entidades caracterizadas por una sola fusión. La RT-PCR resulta útil para diagnóstico de entidades definidas con una sola fusión, como por ejemplo la detección de la fusión EWSR1::FLI en el Sarcoma de Ewing [17].

Por otra parte, existen en el mercado ensayos comerciales para la determinación de fusiones génicas basados en el RT-PCR como es el caso del kit *Idylla Gene Fusion assay* (Biocartis), capaces de detectar varias fusiones en un mismo ensayo.

**PCR- Sanger**

La PCR con secuenciación Sanger es una técnica de biología molecular que combina la amplificación del ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la secuenciación Sanger.

Posteriormente, la secuencia obtenida se compara con una referencia para identificar variaciones en la secuencia de nucleótidos, como mutaciones puntuales, pequeñas inserciones o deleciones. Esta es una técnica robusta y de alta precisión para identificación exacta de mutaciones puntuales, aunque no es una técnica adecuada para el análisis de varios genes a gran escala.

Llegados a este punto, habría que diferenciar entre aquellos casos en los que se requiere detectar alteraciones en regiones *hotspot* de ciertos oncogenes, tales como mutaciones en el exón 3 de *CTNNB1* en los tumores desmoides o en *MyoD1* en el rabdomiosarcoma esclerosante, de alteraciones en genes supresores tumorales como por ejemplo alteraciones en los genes *TSC1/2* en los PEComa. En el primer escenario, es fácil poder determinar alteraciones *hotspot* con PCR Sanger, simplemente amplificando con una pareja de cebadores la zona de interés. Pero cuando se pretende determinar alteraciones en genes supresores tumorales habría que hacerlo mediante NGS para poder abarcar la cobertura de todo el gen, ya que suelen ser genes más grandes donde la alteración puede encontrarse a lo largo de todo el gen.

**Reacción en Cadena de la Polimerasa Cuantitativa (qPCR)**

La qPCR se basa en utilizar sondas, o cebadores específicos, para amplificar el gen de interés y cuantificar su número de copias en relación a las de un gen de referencia, por ejemplo, *RPP30* o *GAPDH* [18]. Esta técnica se utiliza por ejemplo en los sarcomas de tejidos blandos, liposarcomas bien diferenciados y desdiferenciados para determinar la amplificación de *MDM2* [19].

En el caso de usar la qPCR para la determinación de alteraciones puntuales, se usa la qPCR alelo específico. Esta técnica se basa en el diseño de cebadores que contienen el cambio nucleotídico de interés. De esta manera, la qPCR amplificará siempre y cuando esté presente la mutación diana. Un ejemplo de este caso es la mutación *BRAF V600E* para el diagnóstico diferencial con melanoma.

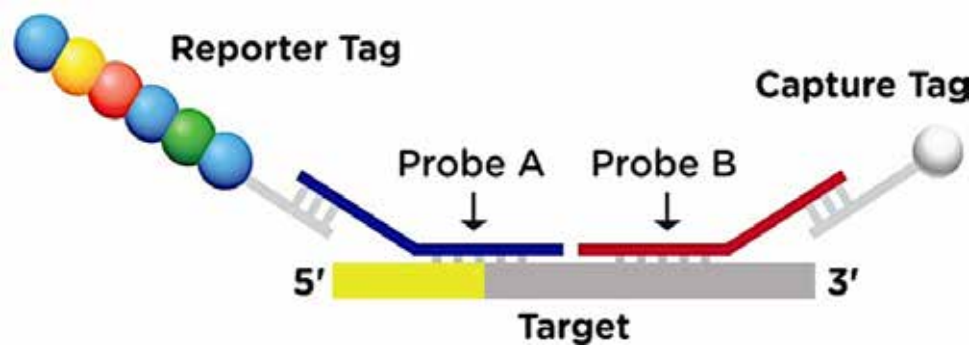
Aunque la qPCR no es una de las técnicas más comunes en los laboratorios de anatomía patológica para el diagnóstico molecular de tumores de partes blandas, cabe decir que presenta una alta especificidad y sensibilidad, aparte de ser una técnica rápida y económica.

**Hibridación multiplexada de sondas fluorescentes: Plataforma *NanoString nCounter***

La tecnologia NanoString, concebida originalmente para la cuantificación de la expresión génica, se ha posicionado como una herramienta diagnóstica de mucha utilidad en sarcomas [20]. El sistema *NanoString nCounter* se basa en la hibridación de ácidos nucleicos para la cuantificación directa de ARN (y ADN) con sondas específicas. Utiliza una química no enzimática que evita la necesidad de conversión de ARN a ADNc, y la amplificación por PCR, lo que minimiza los sesgos y variaciones comunes en otras técnicas, y al mismo tiempo lo hace muy adecuado para analizar ARN degradado preparado a partir de tejido FFPE [21]. En su aplicación para la detección de GF patognomónicos, las sondas están diseñadas para reconocer secuencias específicas del transcrito de ARN en el punto de unión de los dos genes que participan en la fusión (sondas «junction»). Por lo tanto, se trata de un ensayo dirigido que interroga GF con genes partner y puntos de fusión conocidos entre exones concretos, sin capacidad de detectar nuevos GF o nuevos genes partners. Los paneles NanoString desarrollados para GF en sarcomas se basan en la química *Elements Tagset*, que puede detectar hasta 228 fusiones distintas en un único ensayo. En este sistema cada GF se detecta con dos sondas específicas (A y B) que reconocen secuencias diana adyacentes en el ARN a ensayar (Figura 1). Estas sondas hibridan con un oligonucleótido específico marcado con una combinación de fluoróforos que funciona como un código de barras *(reporter tag*) y con un oligonucleótido de secuencia constante conjugado con biotina (capture tag) (Figura 1). La pareja de sondas A y B, junto con los dos elementos *tag* constituyen un *codeset*. Gracias a esta conformación modular, la reconfiguración de la cobertura del panel es muy flexible, ya que sólo es necesario modificar o añadir nuevas sondas A y B. Tras la hibridación del codeset con el ARN de la muestra, las sondas y el ARN no hibridado se lavan, y los híbridos se inmovilizan en la superficie de un chip cubierto con estreptavidina. Posteriormente, un analizador digital (nCounter) realiza el conteo de

las diferentes combinaciones de fluoróforos (códigos de barras) para determinar el nivel de expresión de los ARN diana en la muestra.

**Figura 1.** Representación gráfica de la arquitectura de las sondas de los ensayos *Elements Tagset* en la plataforma *NanoString* (adaptado de *NanoString*).




El primer panel *NanoString* para GF en sarcomas, desarrollado en 2018, cubría 174 GF en 25 entidades diferentes, y se validó en una serie de 212 muestras presentando una sensibilidad del 96 % y una especificidad del 100 %, comparado con técnicas convencionales (FISH y RT-PCR) [22]. Trabajos posteriores por grupos diferentes han validado este mismo panel con niveles de sensibilidad y especificidad similares [23, 24] y otro grupo desarrolló de forma independiente un panel que cubría 34 GF de sarcomas pediátricos, observando una concordancia del 100 % con ensayos RT-PCR en 45 muestras [25]. En todos estos trabajos, la mayoría de las muestras utilizadas para la validación de los paneles son retrospectivas. Nuestro grupo ha llevado a cabo recientemente un amplio estudio de validación técnica y clínica del sistema *NanoString nCounter*, analizando una serie retrospectiva de 96 muestras y otra prospectiva de 76 muestras [26]. En ambas series observamos una sensibilidad mayor del 88 % y una especificidad del 100 % del ensayo *NanoString nCounter* respecto a FISH y RNA-seq dirigido, y una sensibilidad analítica superior al FISH cuando se usa como ensayo de primera línea. El panel o *codeset* que utilizamos en este trabajo es una modificación del desarrollado por Chang et al.[22], con una cobertura mejorada de sondas *junction* para fusiones de sarcomas indiferenciados de célula pequeña y redonda. Además, nuestro *codeset* se complementa con sondas que detectan fusiones mediante una aproximación de «*exon imbalance*», similar a la que se usa en cáncer de pulmón para fusiones de ALK, ROS1 y *RET* [27]. En esta aproximación las sondas reconocen regiones del gen que flanquean el punto de fusión, y la detección se basa en el desequilibrio de la expresión de los exones que se retienen en la fusión respecto a los que se pierden, calculado como la expresión relativa entre ambos. Hemos utilizado esta aproximación en nuestro panel para la detección de fusiones *NAB2::STAT6* (sondas específicas de STAT6), recurrente en tumor fibroso solitario (TFS), y *FUS/EWSR1/PAX5::CREB3L1/2* (sondas específicas de CREB3L1/2) en sarcoma fibromixoide de bajo grado y fibrosarcoma epitelioide esclerosante [26]. En estos reordenamientos, el punto de fusión entre los genes es muy variable, ya que existen muchas variantes exónicas posibles, de manera que se requerirían un set muy amplio de sondas «*junction*» para cubrirlas todas. En el caso del TFS también incluimos sondas «*junction*» para las variantes más prevalentes de *NAB2::STAT6*, proporcionando así doble evidencia de la presencia del GF. La estrategia de sondas *exon imbalance* ha sido utilizada con el mismo fin en un estudio reciente [28] del mismo grupo que desarrolló el panel original [22], con el objeto de maximizar su cobertura para entidades con GF con alta variabilidad en el punto de fusión (*BCOR ITD, COL6A3::CSF1, COLA1::PDGFB, EWSR1/FUS::CREB3L1, EWSR1/FUS::CREB3L2, EWSR1/FUS::NFATC2, NAB2::STAT6, SERPINE::FOSB y WWTR1::CAMTA1*); y también para mejorar la identificación de GF que pueden implican múltiples genes *partner* 5′ diferentes (por ejemplo fusiones *USP6* en fascitis nodular). Otra novedad interesante en este trabajo, es el uso de una firma de expresión como marcador indirecto de los reordenamientos del gen *CIC* con los genes *partner DUX4, DUX4L10, FOXO4* y *NUTM1*. Del mismo modo, en Wang et al. [29] utilizan

una firma de expresión para inferir la amplificación diagnóstica de la región 12q en liposarcomas desdiferenciados y bien diferenciados, demostrando ejemplificando así que el uso del ensayo *NanoString* puede extenderse a entidades sin un GF diagnóstico.

Nuestra propia experiencia y los estudios publicados sobre el uso del sistema *NanoString nCounter* como herramienta diagnóstica en sarcomas, demuestran que este ensayo ofrece múltiples ventajas sobre técnicas convencionales dirigidas como el FISH o la RT-PCR. La ventaja principal es que es posible ensayar simultáneamente un gran número de GF (capacidad de multiplexado), evitando así la necesidad de realizar ensayos FISH consecutivos cuando el diagnóstico está poco orientado, y proporcionando además información sobre los dos genes que participan en el GF. También hay que destacar que, dado que el sistema *NanoString nCounter* se basa en cuantificación de ARN, posee mayor sensibilidad analítica para reordenamientos complejos o crípticos a nivel de ADN, que son difíciles de detectar con FISH. Por otra parte, el coste del ensayo es equiparable al del FISH si se agrupan 8-12 muestras, y el tiempo de respuesta es similar ya que requiere poco tiempo de manipulación de la muestra y de operación del equipo (preparación del chip y conteo automatizados). Además, la evaluación de los resultados es mucho menos laboriosa que en los ensayos FISH, porque sólo es necesario analizar el conteo de las sondas en un excel donde se realizan pasos automáticos de normalización de los datos. Esto también supone un impacto económico significativo, ya que la evaluación del FISH en el microscopio de fluorescencia supone muchas más horas de trabajo de personal especializado [20]. Por tanto, consideramos que el sistema NanoString representa una opción muy recomendable como herramienta diagnóstica de primera línea para laboratorios con un alto volumen de muestras de sarcoma, o para una revisión estandarizada de casos en reclutamiento para ensayos clínicos. Su capacidad de multiplexado de sondas para muchos GF, reduciría la necesidad de tests de segunda línea como el RNA-seq dirigido, que sólo se aplicaría en casos negativos que presenten GF con *partners* no conocidos y no cubiertos por el *codeset*.

**Next Generation Sequencing**

A pesar de su utilidad como herramientas diagnósticas de primera línea, las técnicas convencionales para la detección de GF como el FISH y la RT-PCR, presentan limitaciones que pueden afectar negativamente al diagnóstico temprano y preciso de los sarcomas [20]. Ambos métodos son ensayos dirigidos no multiplexados en los que es necesario conocer uno (FISH) o ambos partners del GF (RT-PCR). En casos complejos con diagnóstico incierto es necesario realizar varios ensayos para testar los diferentes GF. Esto retrasa el diagnóstico definitivo y puede representar un inconveniente en casos de biopsias escasas con poco material disponible. Además, los ensayos FISH sólo proporcionan información sobre el reordenamiento de uno de los dos partners, lo que podría ser insuficiente para resolver el diagnóstico en el caso de genes promiscuos que se pueden combinar con varios partners diferentes, generando GF característicos de diferentes entidades. La FISH también presenta problemas de interpretación en reordenamientos complejos o crípticos, que pueden originar resultar en señales atípicas y falsos negativos, y su límite de resolución no permite detectar fusiones que implican a genes próximos o adyacentes (p.e. *NAB2*::*STAT6* en TFS). Los ensayos RT-PCR sí determinan los dos *partners* del GF, pero la gran variabilidad de combinaciones exónicas posibles en algunos GF requiere ensayar múltiples combinaciones de *primers*. Por último, el amplio catálogo de GF en neoplasias mesenquimales sigue aumentando constantemente, añadiendo una complejidad creciente al proceso diagnóstico difícil de manejar con determinaciones moleculares no multiplexadas que sólo interrogan un GF por ensayo [30].

El gran desarrollo y optimización de las tecnologías NGS en las últimas dos décadas, ha propiciado su aplicación para la identificación de los GF en sarcomas de una manera más eficiente que con estas técnicas convencionales, ya que analizan simultáneamente múltiples secuencias. En términos generales, las tecnologías NGS abarcan un conjunto de metodologías diseñadas para secuenciar millones de moléculas de ADN en paralelo con resolución a nivel de nucleótido. Gracias a estas tecnologías, en los últimos años se ha acelerado el descubrimiento de nuevos GF y otras mutaciones accionables en sarcomas, y su implementación en rutina clínica ha ayudado a mejorar el diagnóstico y

la estratificación pronóstica y terapéutica de los pacientes. Antes de la aplicación de las técnicas de NGS, la descripción de nuevos GF se realizaba mediante técnicas citogenéticas muy laboriosas, generalmente cariotipos seguidos de FISH, que identifican una alteración recurrente en histologías concretas a nivel de ADN. Posteriormente se caracterizaba el transcrito de fusión a nivel de secuencia de nucleótidos mediante RT-PCR y secuenciación Sanger. Con el uso de las tecnologías NGS se ha incrementado exponencialmente la identificación de nuevos GF que definen nuevas entidades clínico-patológicas, ya que no es necesario tener información citogenética previa [31, 32]. En general, para la detección de GF se utilizan técnicas NGS que analizan ARN (retrotranscrito a ADNc) [31, 33, 34]. Las translocaciones suelen producirse en secuencias intrónicas muy extensas que se maduran mediante *splicing* en el ARN para fusionar los exones en el transcrito [35, 36]. De esta forma, el estudio se restringe a regiones transcritas mucho más reducidas que las secuencias correspondientes en el ADN genómico, que además evidencian que el GF efectivamente se expresa, y en las que es posible comprobar si se conserva la fase de lectura en el transcrito para generar una proteína de fusión [32]. En comparación con la RT-PCR, la técnica convencional que también analiza ARN, el RNA-seq ha demostrado mayor sensibilidad analítica, lo que supone una ventaja en tumores con abundante estroma y baja celularidad, o con componente inflamatorio.

En la práctica clínica diagnóstica, el uso de las técnicas NGS se realiza mayoritariamente mediante aproximaciones dirigidas (*targeted* NGS), que seleccionan de forma específica genes o regiones de interés dentro del genoma o transcriptoma. Este enfoque permite analizar de manera eficiente un panel de regiones con una mayor profundidad de secuenciación, garantizando así la detección precisa de las mutaciones diagnósticas incluso en un contexto celular heterogéneo, como ocurre frecuentemente en las muestras clínicas. Esta estrategia reduce los costes y el tiempo de secuenciación, y evita la necesidad de contar con equipos de secuenciación de alta capacidad. Además, dado que los datos que se generan se restringen a un grupo de genes de interés con relevancia diagnóstica, se pueden reducir los recursos bioinformáticos de almacenaje y de análisis, facilitando así la implementación de la técnica y la interpretación de los resultados [20]. Para la aplicación clínica de la NGS al diagnóstico molecular de los sarcomas, generalmente se utilizan paneles RNA-seq (targeted RNA-seq) [35], que consisten en librerías enriquecidas en los genes implicados frecuentemente en los GF patognomónicos, aunque también pueden incluir el análisis de variantes SNV e indels. Sin embargo, para la detección de estas alteraciones (SNV, indels y CNV), es aconsejable utilizar paneles de ADN (targeted DNA-seq). Existen diferentes sistemas de enriquecimiento de genes para estos paneles, que pueden agruparse en dos tipos de aproximaciones: **Secuenciación de amplicones** (amplificación por PCR) y **secuenciación de captura de híbridos**. En ambos casos es recomendable utilizar paneles con una cobertura amplia y actualizada de GF que garantice la máxima sensibilidad clínica.

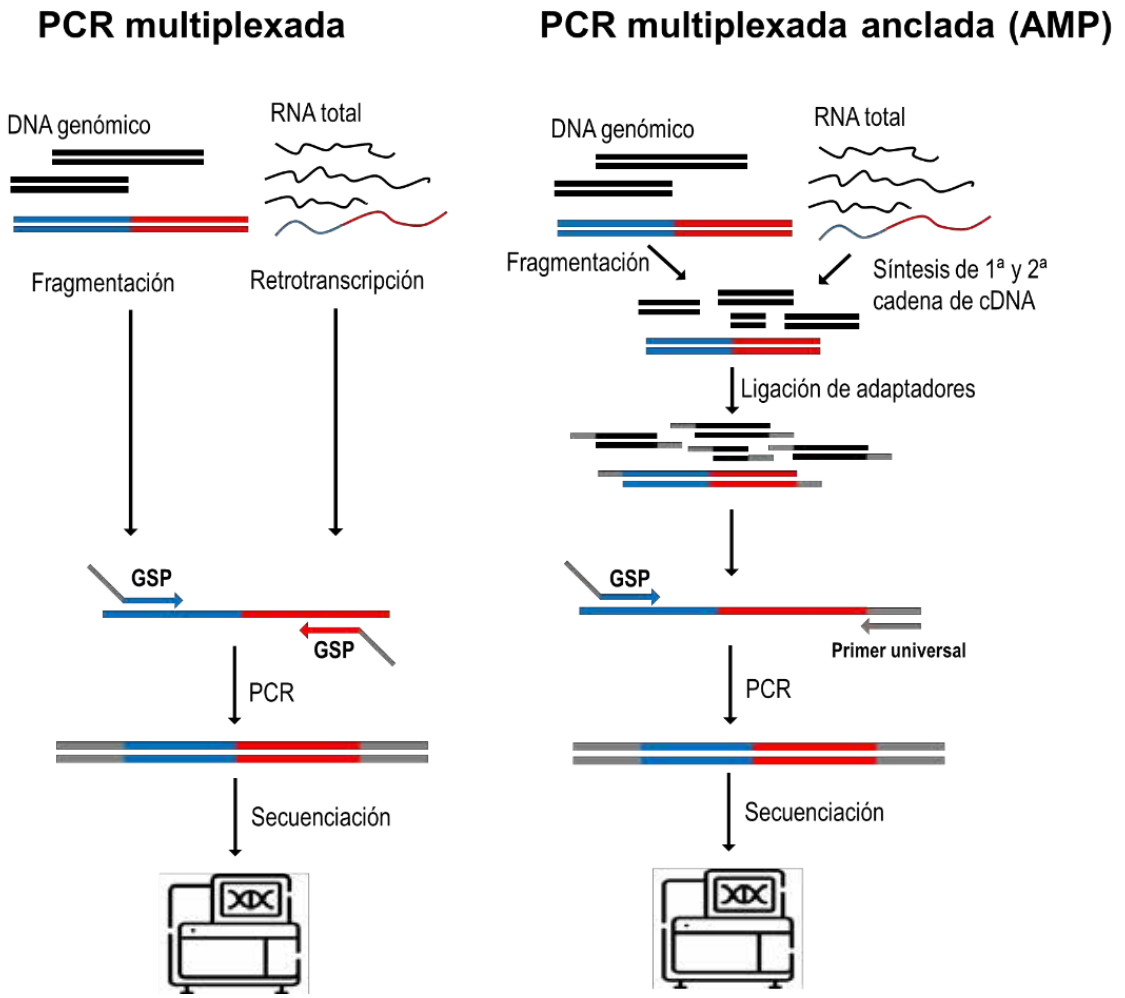
**Secuenciación basada en amplicones**

En esta modalidad, las librerías NGS se enriquecen en los genes de interés mediante amplificación por PCR multiplexada (mPCR), mediante el uso de un conjunto de *primers* específicos de las regiones diana en una única reacción. En estos métodos se añaden adaptadores a las secuencias de interés mediante ligación o durante la propia PCR. Estos adaptadores contienen índices (secuencias cortas de bases que identifican cada muestra), y secuencias complementarias a los *primers* de las *flowcells* (soporte físico donde tiene lugar la secuenciación) utilizadas en las plataformas de secuenciación NGS (las más extendidas Illumina, Ion Torrent).

Dentro de esta metodología, existen dos grupos de métodos en función del tipo de *primers* que se usan para generar los amplicones (Figura 2). Por una parte, los métodos de mPCR convencional utilizan parejas de *primers* específicos (GSP, *gene specific primer*) que reconocen secuencias en los dos genes que participan en la fusión, de manera que sólo es posible detectar GF conocidos. Otro grupo de métodos como la mPCR anclada (AMP, *anchored multiplex PCR*), generan los amplicones mediante la aproximación RACE (*Rapid Amplification of cDNA Ends*), que permite amplificar regiones diana de las que sólo se conoce la secuencia de un extremo del ADNc [37]. En este caso también se trata de sistemas de mPCR, pero sólo uno de los *primers* es específico para uno de los genes que participa en la fusión. Por

tanto, se pueden detectar nuevos GF que combinen genes *partner* no conocidos con genes cubiertos por el panel (Figura 2). Además, esto permite identificar las variantes de *splicing* que generan fusiones con exones alternativos a los descritos (Figura 2).

**Figura 2.** Modalidades de PCR multiplexada (mPCR). La mPCR convencional utiliza *primers* específicos (GSP) para amplificar GF conocidos. La mPCR anclada (AMP) utiliza un *primer* específico (GSP) y un *primer* universal que posibilita la amplificación de GFs con *partners* no conocidos. (Adaptado de Heyer and Blackburn [36]).




**PCR multiplex convencional: Paneles ThermoFisher**

Los paneles más utilizados en clínica que emplean esta metodología de secuenciación mPCR, son los que ofrecen la compañía *ThermoFisher Scientific* con tecnología *AmpliSeq*™. Illumina también comercializa los mismos paneles *AmpliSeq,* gracias a un acuerdo comercial entre ambas compañías en 2018. La química *AmpliSeq* amplifica las regiones de interés en ADN y ARN (retrotranscrito a ADNc) mediante *primers* específicos (mPCR convencional) y permiten la identificación de SNV, *indels* y CNV en la librería de ADN, y GF en la librería de ARN, todo en un único flujo de trabajo que genera ambas librerías en paralelo. Los adaptadores se ligan tras la amplificación por PCR de las librerías. La preparación de las librerías puede automatizarse en un equipo, *Ion Chef* System, minimizando así la manipulación de muestras y reactivos, y liberando tiempo de trabajo del personal del laboratorio. Está tecnología es compatible con las plataformas de secuenciación *Ion PGM™ System* y *Ion Torrent™*, y la

compañía también provee del software necesario para el análisis, filtrado e interpretación de los datos de secuenciación (Ion Reporter).

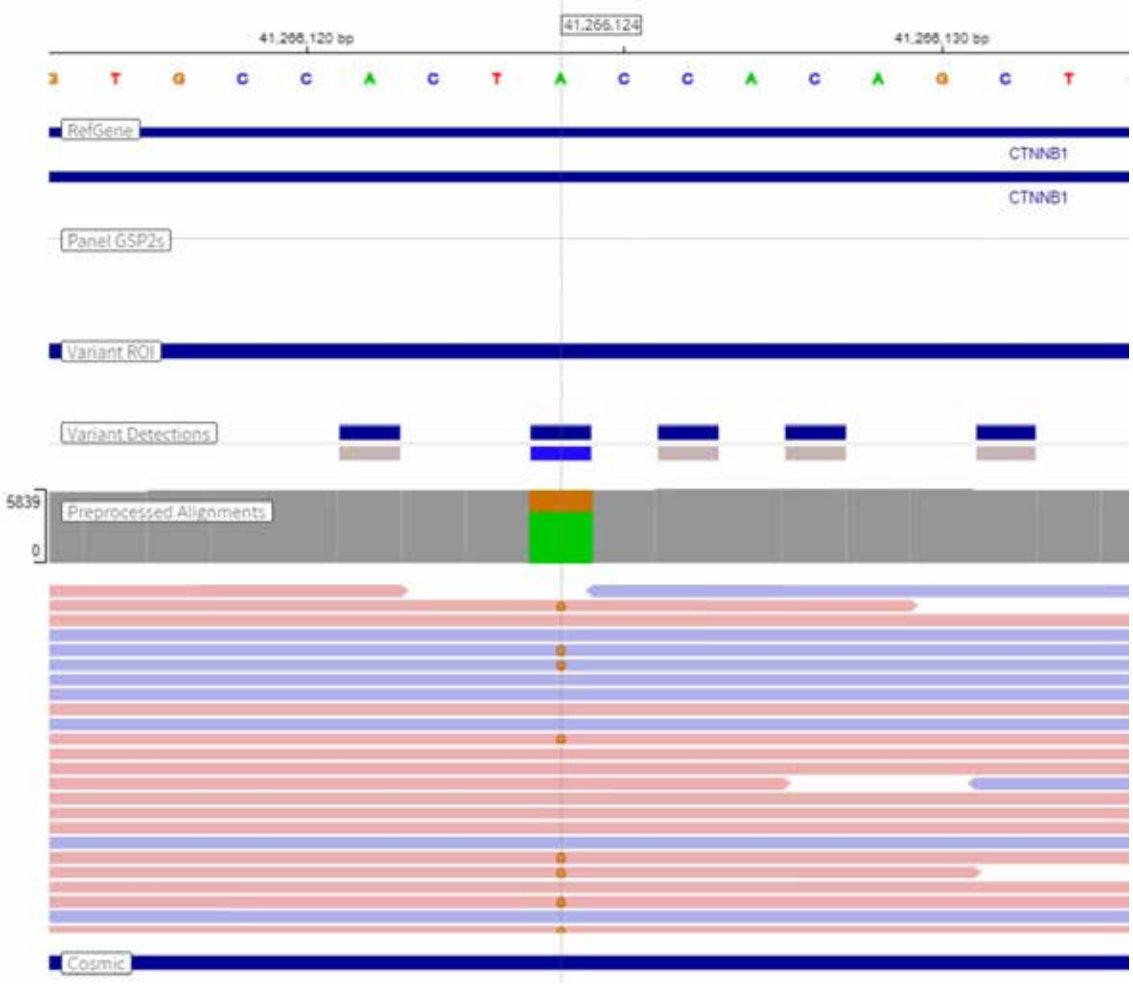
ThermoFisher Scientific ofrece varios paneles con distinta cobertura de genes. Entre ellos, el más apropiado para sarcomas es **Oncomine™ Childhood Cancer Research Assay (OCA**), diseñado para detectar alteraciones en genes relevantes en un amplio espectro de tumores que afectan a niños y adolescentes incluyendo leucemias, linfomas, sarcomas y tumores cerebrales y del sistema nervioso central. En concreto, el panel completo cubre un total de 203 genes. El panel de ADN cubre mutaciones relevantes en 88 genes, y tiene cobertura completa de todos los exones en 44 genes supresores de tumores. También detecta CNV en 28 genes. El panel de ARN para GF cubre 98 genes. Sin embargo, al tratarse de una tecnología NGS basada en mPCR convencional, no permite la identificación de fusiones génicas que involucren genes *partner* no cubiertos. Como material de partida se requiere al menos 10 ng de ARN o ADN total de material FFPE. Si el ARN presenta muy alta calidad, se puede partir incluso de 1 ng.

Este panel se ha evaluado en España en un estudio conjunto de la Clínica Universidad de Navarra y el hospital universitario Cruces de Barakaldo. En este trabajo se estudian 53 sarcomas óseos de pacientes pediátricos y adultos jóvenes, previamente analizados con técnicas convencionales. La aplicación del panel permitió una mayor precisión diagnóstica en 11 casos, y condujo a un diagnóstico alternativo en 9 casos. Como consecuencia, se modificó el régimen de tratamiento en el 80 % de estos 20 casos [38].

**PCR mutiplex anclada: Paneles Archer FUSIONPlex.**

Estos sistemas de librerías AMP, también compatibles con material FFPE, se comercializan por la compañía ArcherDX (ahora parte de IDT, Integrated DNA Technologies), con la denominación FUSION*Plex*, ofreciendo una variedad de paneles en función de los genes de interés a analizar. La compañía también proporciona un paquete de software para el análisis e interpretación de los datos de secuenciación (*Archer Analysis*), que no requiere conocimientos avanzados de bioinformática. El material de partida es una preparación de ácidos nucleicos totales (TNA, *total nucleic acids*, ADN/ARN) con la que se produce una única librería. Además de los GF y variantes de *splicing*, estas librerías pueden detectar mutaciones SNV e indels (p.e. mutaciones puntuales en *CTNNB1,* Figura 3), pero es más recomendable aplicar paneles de ADN para este tipo de alteraciones, sobre todo para las que resultan en reducción de la expresión del gen afectado. Se recomienda partir de 200ng de ARN, cantidad sensiblemente superior a la que requieren los paneles mPCR convencionales, aunque esta cantidad puede ser inferior si la calidad del ARN es buena. El formato de los kits FUSION*Plex* es de reactivos liofilizados, que facilitan el flujo trabajo minimizando el riesgo de posibles contaminaciones durante el pipeteo.

**Figura 3**. Mutación en *CTNNB1* (p.Thr41Ala; c.121A>G) en un caso de fibromatosis desmoide. En la parte superior se indica la secuencia de referencia. Abajo se muestra el alineamiento de las lecturas NGS, indicando el alelo alternativo (G).




Las librerías FUSION*Plex* utilizan UMIs (*Unique Molecular Identifiers*), también denominados MBC *(Molecular Barcode*), para identificar las moléculas originales de ARN/ADN en la muestra. Estos UMIs forman parte de los adaptadores que se incorporan mediante ligación al ADNc/ADN antes de la amplificación (Figura 1), de manera que es posible distinguir una molécula única de los duplicados de PCR (deduplicación). Esto permite «contar» transcritos únicos que cubren el punto de fusión, para que la detección de los potenciales GF sea más fiable. Además, la deduplicación también permite hacer más precisa la detección de SNV, ya que se pueden distinguir los errores de PCR y secuenciación de las verdaderas mutaciones. De esta forma se aumenta la sensibilidad para detección de mutaciones con baja frecuencia en la muestra (p.e. muestra con baja proporción en células tumorales con la mutación).

La primera versión del panel para sarcomas cubría 26 genes. Posteriormente, este panel se actualizó a una versión de 63 genes, **FUSION*Plex* Sarcoma V2**, en cuyo diseño y validación participamos activamente, con cobertura mejorada para nuevas entidades. Actualmente existe un nuevo panel, FUSION*Plex* Pan Solid Tumor V2, que cubre 137 genes implicados en fusiones en sarcomas y otros tumores sólidos más prevalentes como cáncer de mama, colorectal, gástrico, páncreas, sistema nervioso central y cáncer de pulmón no microcítico. Este panel requiere más lecturas que el panel actualizado específico de sarcoma (3,5 millones vs 2 millones de lecturas), pero puede ser interesante para agrupar casos de sarcoma con carcinomas en los que sea necesario testar GF, o casos en los que se dude del origen epitelial.

Nuestro laboratorio adoptó las librerías FUSION*Plex* Sarcoma en 2017. Desde entonces, hemos procesado más de 1000 muestras de sarcoma con las diferentes versiones del panel. En nuestra práctica clínica hemos comprobado que este sistema de RNA-seq dirigido demuestra mejor sensibilidad analítica y clínica que el FISH [26, 39-42]. Además, hemos comprobado que el panel FUSION*Plex* Sarcoma detecta reordenamientos *EWSR1::ERG* crípticos a nivel de ADN no detectables por FISH (mayor sensibilidad analítica) (Figura 4), e identifica fusiones *CIC* o *BCOR* en casos con sospecha de sarcoma de Ewing testados previamente con FISH para *EWSR1*, o fusiones *EWSR1* con partners no ETS en casos FISH *EWSR1* positivos (mayor sensibilidad clínica) [26, 43, 44].

**Figura 4**. Detección de la fusión *EWSR1::ERG* mediante RNA-seq dirigido (Archer FusionPlex) en muestra de sarcoma con FISH *EWSR1* negativa. En el panel superior se representan los exones implicados de ambos genes. En el panel inferior se indica la secuencia de nucleótidos del punto de fusión, y el alineamiento de las lecturas NGS con las regiones cromosómicas de referencia.

Las diferentes versiones del panel FUSION*Plex* Sarcoma que ofrece ArcherDX, o paneles «customizados» que utilizan su tecnología AMP, se han validado ampliamente para su uso clínico en multitud de centros europeos y americanos [45-51]. En general, estos estudios confirman que los paneles FUSION*Plex* demuestran mayor sensibilidad que los ensayos FISH y RT-PCR, y que el sistema AMP es preferible a las librerías mPCR convencionales (Oncomine), ya que permite detectar GF con partners no descritos. Esto es especialmente relevante en casos con GF que constituyen dianas terapéuticas. En general, los genes de quinasas con potencial oncogénico como la familia de genes NTRK, ALK, ROS1 y *RET*, pueden reordenarse con una diversidad enorme de genes partner. Existe un amplio espectro de tumores que pueden presentar estas fusiones accionables, lo que ha motivado referirlos con denominaciones como NTRKomas o ALKomas [52], sobre todo desde la perspectiva terapéutica, ya que son susceptibles de tratamientos dirigidos *«tumor agnostic»* con inhibidores de estas kinasas. Aunque los paneles mPCR convencionales como Oncomine cubren los GF más prevalentes de estas kinasas, los casos con variantes más raras pueden identificarse como falsos negativos [46, 47, 50].

La capacidad de los sistemas AMP para la detección de nuevos partners de fusión, también es muy útil en el caso de genes promiscuos en sarcoma como *EWSR1*, para el que se siguen describiendo nuevos GF que podrían definir nuevas entidades [44].

**PCR de extensión de un solo *primer*: Paneles QIAseq**

Los ensayos de QIAGEN se basan en una estrategia similar a AMP, a la que denominan extensión de un solo *primer* (SPE, *Single Primer Extension*), y también utilizan UMIs. Así, del mismo modo que AMP, cada gen de interés se enriquece mediante la amplificación con un *primer* específico y un *primer* universal que hibrida sobre una región del adaptador, permitiendo la detección de nuevos *partners* de fusión. Los paneles son compatibles con diferentes plataformas y funcionan tanto en instrumentos Illumina como Ion Torrent.

QIAGEN ofrece varios paneles que permiten la identificación combinada de GF, expresión génica y SNV/indels (QIAseq RNA Fusion XP Panels) a nivel de ARN, con distintas coberturas. El panel **QIAseq RNA Fusion XP Sarcoma** está diseñado para identificar alteraciones en sarcomas. Este panel interroga 246 genes, con cobertura de 115 genes para GF, 86 genes para expresión génica y 72 genes para la identificación de SNVs/Indels. Se recomienda usar entre 100–200 ng ARN de material FFPE, aunque estas cantidades pueden variar en función de la integridad de la muestra. Los datos resultantes de la secuenciación pueden ser analizados con el software QIAGEN's Cloud-Based.

Además, la empresa ofrece un catálogo de paneles **QIAseq Multimodal** para obtener simultáneamente librerías de ADN y ARN a partir de una preparación de TNA (ADN y ARN). Se parte de un único tubo de TNA y se incorporan adaptadores específicos para ADN o ARN, y posteriormente se realiza el enriquecimiento simultáneo de ADN y ARN mediante amplificación por PCR. Esto permite unificar el flujo de trabajo, reduciendo la cantidad necesaria de material biológico de partida, y simplifica el proceso de la preparación de librerías para minimizar los errores de manipulación. A diferencia de los paneles FUSIONPlex que producen una única librería a partir de TNA, los paneles QIAseq Multimodal producen una librería de ADN y otra de ARN, lo cual permite una detección más fiable de SNV, indels y CNV con la librería ADN; y por supuesto la detección de GF y expresión génica a partir de ARN. Para ADN, el rango de material de partida recomendado es de 40 a 250 ng para muestras FFPE. Para ARN, ≤250 ng para muestras FFPE (hasta 500 ng para muestras FFPE «severamente» degradadas: DV200< 40 %). Es posible usar cantidades menores; sin embargo, esto reduciría el número de UMIs secuenciados resultando en una menor sensibilidad en la detección de variantes. Después de la secuenciación, los resultados pueden analizarse utilizando el portal de análisis de datos QIAseq Multimodal. Las variantes detectadas pueden interpretarse posteriormente utilizando QIAGEN Clinical Insight Interpret (QCI-I), una plataforma de interpretación de datos NGS con certificado IVDR para oncología y enfermedades hereditarias.

Dentro del extenso catálogo de paneles *Multimodal*, con el panel **QIAseq Multimodal Human Sarcoma** se puede estudiar una amplia variedad de alteraciones genéticas descritas en sarcomas. En concreto, el panel cubre 251 genes: 151 genes para la identificación de alteraciones en el ADN (CNV, SNV, indels), y 102 genes para la detección de GF y niveles de expresión.

Recientemente, se ha publicado el diseño, validación e implementación de un panel de NGS basado en amplicones para la detección de GF en sarcomas que utiliza la química *QIAseq*. Este ensayo, **SARCP** (*The Mayo Clinic Laboratorie*s), detecta fusiones génicas en 138 genes (>280 variantes) y duplicaciones en tándem internas (ITD) en el gen BCOR. Este panel ha sido validado en 652 muestras de pacientes, identificándose GF en 238 casos (36,5 %), donde se incluyen 83 GF distintas, 10 de las cuales no descritas previamente [53].

**Secuenciación basada en captura por hibridación**

Esta metodología de enriquecimiento de regiones de interés es una estrategia que se aplica inmediatamente después de la extracción de ácidos nucleicos y la preparación de la librería de fragmentos. En primer lugar, se generan librerías de ADN y/o ADNc, a las cuales se incorporan adaptadores que tienen los índices de identificación de la muestra y las secuencias complementarias a los *primers* de la *flowcell*. Posteriormente, se introduce un paso de hibridación con sondas biotiniladas específicas para capturar las regiones de interés. Los híbridos se purifican para eliminar los fragmentos no deseados y se realizan una o más rondas de amplificación. Estos pasos de hibridación y purificación alargan el protocolo y lo hacen más laborioso en comparación con los métodos basados en amplicones. Sin embargo, con la captura por hibridación se obtiene una cobertura más homogénea de los genes de interés, ya que en el enriquecimiento con amplicones puede haber regiones que se amplifiquen mejor que otras. Además, permite un grado mayor de multiplexado de regiones de interés, que puede comprender incluso el exoma completo, porque se evitan problemas técnicos derivados de la PCR, como la amplificación inespecífica y la interferencia de los dímeros de *primers* en la generación de amplicones por PCR. La captura por hibridación también permite ensayar ácidos nucleicos muy degradados. Por tanto, esta aproximación se usa para paneles de genes muy extensos y muestras de muy baja calidad, mientras que la aproximación ideal para paneles más restringidos sería la de enriquecimiento por amplicones [20, 33, 36]. Los paneles de captura por hibridación de uso más generalizado para detección de GF son los ***TruSight* de Illumina**. Hemos seleccionado para su descripción dos paneles concretos en base a su cobertura de genes relevantes en sarcoma. En ambos casos, el sistema de enriquecimiento permite identificar GF con partners no conocidos, como ocurre con las librerías de amplicones mPCR ancladas (p.e. AMP).

***TruSight Tumor 170 RNA Assay***. Este panel produce librerías de ADN y ARN simultáneamente, para detección de SNV, *indels* y amplificaciones (ADN), y GF y variantes de *splicing* (ARN). Illumina recomienda usar un kit de extracción de ácidos nucleicos (AllPrep DNA/RNA, QIAGEN) que permite, a partir de una sola muestra de material FFPE, extraer por separado ADN y ARN. Como material de partida recomiendan usar 40 ng de ADN y/o ARN. En el caso de muestras altamente degradadas, se recomienda utilizar hasta un máximo de 120 ng of ADN y 85 ng de ARN. Este panel tiene cobertura limitada a ciertos subtipos de sarcomas, destacando sarcoma de Ewing y rabdomiosarcoma, y tumores con reordenamientos NTRK, ALK, ROS y MET. En concreto, cubre 170 genes asociados a tumores sólidos, 55 de los genes se analizan para identificar GF y variantes de *splicing*, 151 genes para SNV e indels y 59 para amplificaciones.

***TruSight RNA fusion panel.*** Este panel produce librerías de ARN para la identificación de GF. Cubre 507 genes implicados en GF asociados con diversos tipos de cáncer, tanto hematológicos como sólidos, con buena cobertura para la identificación de GF en sarcomas. El panel incluye 21.283 sondas de captura, que hibridan con 7.690 regiones exónicas diferentes. Como material de partida, se recomienda ajustar la cantidad de ARN inicial según la integridad de la muestra. Específicamente, para ARN con valores DV200 entre 30 % y 50 % (calidad baja), se recomienda usar 50-100 ng, pudiéndose disminuir gradualmente la cantidad inicial de ARN hasta 20 ng para muestras de buena calidad (DV200 > 70 %). Este panel ha sido evaluado en una cohorte de 138 casos, mayoritariamente sarcomas, demostrando mayor sensibilidad en la detección de GF que las técnicas convencionales [54].

Para el análisis informático, *Illumina* ofrece el software *Local Run Manager,* diseñado para analizar y visualizar los resultados. Además, presenta una gama de módulos de análisis de datos automatizados para una amplia variedad de aplicaciones, y compatibles con los datos obtenidos con cada panel. Por ejemplo, para el panel *TruSight Tumor 170 RNA Assay,* Illumina ofrece el módulo de análisis *Oncology Gene Panel 170 analysis module,* para el análisis de SNV y CNV en las librerías de ADN, y GF y variantes de *splicing* en las de ARN. Por otro lado*, el módulo RNA Fusion Analysis Module*, identifica los GF de las librerías preparadas con *TruSight RNA Fusion* Panel. Además, los análisis proporcionan las asociaciones relevantes con enfermedades según la base de datos *Mitelman Database of Chromosome Aberrations and Gene Fusions in Cancer*. También existe la opción de explorar SNV y expresión génica con más detalle en *BaseSpace Sequence Hub* con la aplicación *RNA-SeqAlignment*.

**Tabla 3**. Comparación de paneles NGS con cobertura para alteraciones características de sarcomas.

| | Oncomine™ Childhood Cancer Research Assay | Archer™ FUSIONPlex™ Sarcoma v2 | Archer™ FUSIONPlex™ Pan Solid | RNA Fusion XP Sarcoma Panel | QIAseq Multimodal Human Sarcoma Panel | TruSight RNA fusion panel |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Metodología** | Amplicones (mPCR) | Amplicones (AMP) | Amplicones (AMP) | Amplicones (SPE) | Amplicones (SPE) | Captura de hibridación |
| **Casa comercial** | *ThermoFisher Scientific* | *IDT* | *IDT* | *QIAGEN* | *QIAGEN* | *Illumina* |
| **Nº Genes cubiertos** | 203 | 63 | 137 | 246 | 251 | 507 |
| **Variantes genómicas/ transcriptómicas** | SNV, CNV, indels, GF | GF, variantes de splicing, SNV, indels y expresión relativa | GF, variantes de splicing, SNV, indels y expresión relativa | GF, expresión, SNV, indels | CNV, SNV, indels, GF, exon skipping, expresión | GF |
| **Identificación de nuevos GF** | No | Sí | Sí | Sí | Sí | Sí |
| **Material recomendado de partida** | ≥10 ng RNA/DNA | 200 ng TNA | 200 ng TNA | 100-200 ng RNA | ≥25 ng TNA | ≥20 ng RNA |
| **Plataforma de secuenciación** | *Ion Torrent* | Illumina / Ion Torrent | Illumina / Ion Torrent | Illumina / Ion Torrent | Illumina / Ion Torrent | *Illumina* |
| **Software de análisis** | *Ion Reporter Software* | *Archer Analysis software* | *Archer Analysis software* | QIAGEN's Cloud-Based | QIAGEN's Cloud-Based | *Local Run Manager* |

**¿Cuándo escoger uno u otro?**

En general es preferible utilizar paneles con una cobertura actualizada de alteraciones descritas en sarcomas, aunque un número elevado de genes diana puede elevar el coste del ensayo; se encarece tanto el coste del propio panel, como el de los reactivos de secuenciación porque es necesario realizar más lecturas. También es aconsejable utilizar paneles con capacidad de detectar GF con partners no conocidos, que garanticen más sensibilidad en la detección de reordenamientos de kinasas oncogénicas y de genes promiscuos. Si se pretende testar sarcomas con alteraciones diagnósticas distintas de las translocaciones, p.e.: CNV (amplificación de *MDM2* en liposarcoma mixoide) o SNV (mutación de *CTNNB1* en fibromatosis desmoide, mutaciones *KIT, PDGFB* en GIST, etc.), es aconsejable utilizar paneles de ADN, más fiables para este tipo de alteraciones.

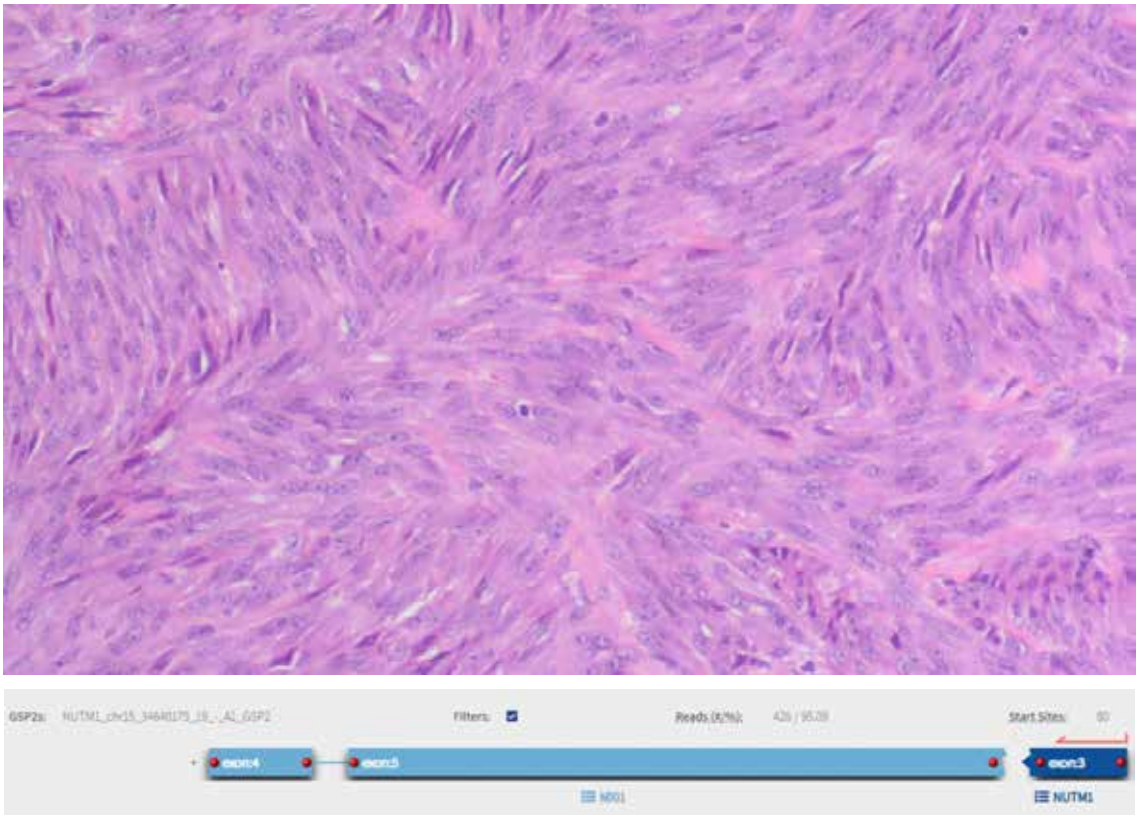
**Aspectos técnicos a tener en cuenta que**

- Riesgo de contaminación.
  Dado que generalmente se agrupan varias muestras para realizar los análisis NGS, existe riesgo de contaminación cruzada durante su procesamiento. Para minimizar este riesgo, se aconseja limpiar bien el micrótomo, la cuchilla y el baño de agua antes de realizar los cortes de cada caso. De igual modo, hay que extremar las precauciones durante el pipeteo en los procesos de extracción de ácidos nucleicos y preparación de la librería. El pipeline informático de ArcherDX para FUSION*Plex* incluye un algoritmo que considera varios parámetros de secuenciación para detectar contaminación cruzada entre muestras de una misma carrera que presentan un mismo GF. Sobre todo, es indicativo de contaminación que los GF detectados en distintas muestras de una misma carrera presenten exactamente los mismos exones y los mismos puntos de rotura. Generalmente el GF detectado en una muestra contaminada presenta menos

lecturas que en la muestra origen de la contaminación. En ese caso, es necesario comprobar si el hallazgo es congruente con la histomorfología de las muestras [33].

- Consideraciones sobre los hallazgos de GF
  Generalmente, los GFs identificados mediante NGS confirman o descartan la sospecha diagnóstica del patólogo que solicita la prueba. En algunas ocasiones el panel de RNA-seq puede identificar un GF inusual o no esperado que sugiere un diagnóstico no contemplado inicialmente en base a la histomorfología y la información clínica del paciente. En estos casos es necesario realizar una revisión exhaustiva de la literatura y de las bases de datos que registran reordenamientos (*COSMIC, Mitelman Database of Chromosome Aberrations and Gene Fusions in Cancer, Archer Quiver Fusion*, entre otras), para comprobar si se han descrito GFs similares que ayuden a interpretar el resultado (Figura 5).

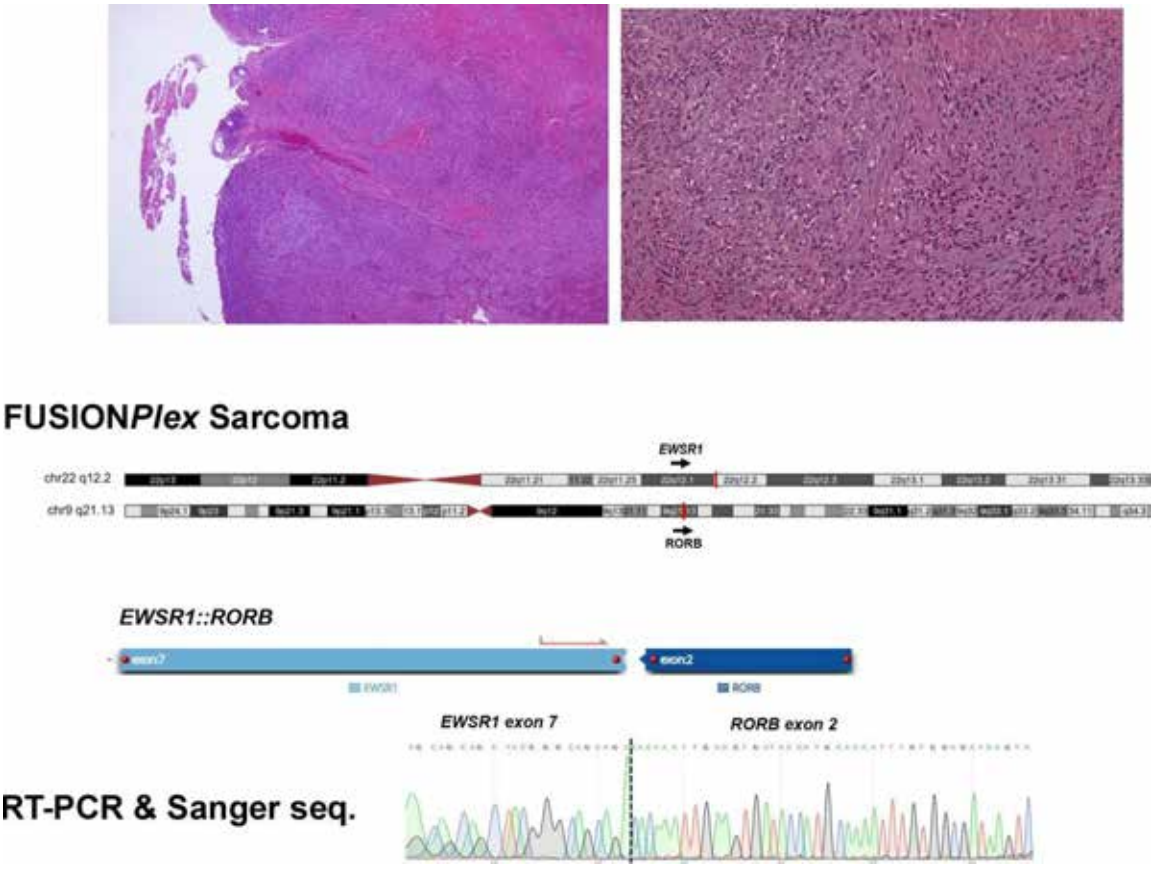
**Figura 5**. Ejemplo de detección de GF no esperado. Se muestra sección H-E de una masa tumoral en vejiga en una mujer de 57 años, que presentaba un perfil morfológico e inmunofenotípico compatible con leiomiosarcoma. Tras falta de respuesta al tratamiento, continuas recidivas y diseminación extravesical, el caso se analiza con el panel FUSION*Plex* Sarcoma, que identifica la fusión *MXI1::NUTM1*. Tras la revisión de la literatura, esta misma fusión se encuentra descrita en un caso de una serie de 6 neoplasias muy agresivas del sistema genito-urinario, asociadas a reordenamientos *NUMT1* [55].




Cuando no existe precedente descrito del GF detectado, puede ser difícil interpretar si el GF es patogénico y relevante funcionalmente, o si se trata de una alteración secundaria irrelevante resultado de la inestabilidad genómica inherente al tumor. Es importante comprobar que haya un número suficiente de lecturas únicas (deduplicadas) que cubran el punto de fusión, y que la fusión entre los exones de los dos genes partner preserve la fase de lectura para generar una proteína funcional. Tras estas comprobaciones, es necesario confirmar el hallazgo con otras técnicas, usualmente RT-PCR seguida de secuenciación Sanger [44]. Como molde para la RT-PCR se puede usar el ARN utilizado previamente en la preparación de la librería, y para el diseño de los *primers* que flanqueen el punto de fusión se puede tomar como referencia la secuencia de fusión obtenida en la carrera NGS. Siguiendo esta esquena de trabajo, hemos descrito recientemente tres fusiones de *EWSR1* con partners nuevos o

inusuales en neoplasias mesenquimales indiferenciadas, potencialmente útiles como «casos índice» para buscar otros con características similares que permitan etiquetar una nueva entidad patológica definida por el nuevo GF. Es importante hacer difusión de estos hallazgos en tumores tan poco prevalentes como los sarcomas, para que cualquier centro pueda contribuir a identificar casos similares (Figura 6) [44].

**Figura 6**. Confirmación de nuevo un GF mediante RT-PCR y secuenciación Sanger. Tumor plantar en una paciente de 62 años que presentó recurrencia local a los 6 meses tras la resección, con diagnóstico inicial de tumor de células gigantes. En la parte superior se muestran imágenes representativas de las características morfológicas del tumor, que presenta células fusiformes y epitelioides. Debajo se representa la localización cromosómica de los genes implicados en la fusión, y los exones fusionados como los indica el análisis de los datos del ensayo FUSION*Plex*. Por último, se muestra el cromatograma con la secuencia de nucleótidos obtenida tras la secuenciación Sanger del producto de amplificación de la RT-PCR [44]. Tras la publicación del caso, tuvimos conocimiento de otro similar en un hospital de Helsinki, Finlandia, una neoplasia en la palma de la mano de una paciente joven, que fue inicialmente clasificado como tumor tenosinovial atípico de células gigantes. Este caso presentaba el mismo GF con el mismo punto de fusión que publicamos, lo que motivó al patólogo a comunicarnos los detalles de su caso (comunicación personal).




En cualquier caso, los hallazgos novedosos o no esperados deben interpretarse conjuntamente en un panel de discusión que implique a biólogos moleculares, patólogos, y otros profesionales clínicos involucrados en el manejo del paciente. Especialmente cuando el GF inesperado pueda ayudar a tipificar el tumor para asignar el tratamiento más adecuado (Figura 7).

**Figura 7. Nuevo reordenamiento de CIC detectado con el panel FUSIONPlex Sarcoma V2**. La muestra analizada fue un sarcoma de células redondas, en el glúteo de un paciente de 20 años, que presentaba expresión intensa y difusa de CD99. El análisis bioinformático no identificó ningún GF con parámetros de secuenciación fiables. El panel FUSIONPlex Sarcoma v2 cubre los genes *ETV1, ETV4* y *ETV5*, que presentaban alta expresión en la muestra. Estos genes pertenecen a la subfamilia *PEA3* de factores *ETS*, y son firma característica en casos con reordenamientos de *CIC* con *DUX4* y otros genes *partner*. Se ha propuesto que los reordenamientos *CIC* resultan en la pérdida de un dominio represor que inhibe la expresión de los genes *PEA3* [56]. Esto nos indujo a buscar fusiones *CIC* entre los GF con baja expresión (normalmente filtrados por el software), encontrando la nueva fusión de *CIC* con un *partner* no descrito, el microRNA MIR8078, que aún debe confirmarse con técnicas ortogonales.

**Ventajas y desventajas de cada una de las técnicas moleculares útiles en el diagnóstico de los tumores de partes blandas**

La decisión de cuál es la mejor técnica molecular a utilizar en cada caso, dependerá de múltiples factores, entre los que cabe destacar, la disponibilidad de la técnica, el tiempo de espera, el coste o la sensibilidad y especificidad. Teniendo en cuenta que aspectos como la disponibilidad, el tiempo de espera y el coste pueden variar entre centros adjuntamos la comparativas entre las distintas técnicas moleculares para la determinación de los distintos tipos de alteraciones a analizar en este campo (Tabla 4,5 y 6).

**Tabla 4.** Ventajas y desventajas de las distintas técnicas moleculares orientadas al estudio de CVN.

| **CNV** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **IHQ** | **FISH** | **qPCR** | **NGS dirigida y NGS no dirigida** | **arrays de SNPs** |
| Ventajas | Rápida y económica | Alta especificidad y sensibilidad<br><br>Permite análisis del tejido tumoral vs el tejido sano | Rápida y económica<br><br>Alta sensibilidad | Analiza múltiples genes en un mismo ensayo<br><br>Detecta otras alteraciones (SNV/INDEL, Fusiones) | Análisis global del genoma<br><br>Alta resolución |
| Desventajas | Detecta la expresión proteica, no detecta si el ADN amplificado / delecionado | Uno o pocos genes por ensayo<br><br>Requiere microscopio de fluorescencia<br><br>Interpretación compleja | uno o pocos genes por ensayo | Elevado coste<br><br>Requiere bioinformático<br><br>Sensibilidad proporcional a la profundidad de secuenciación | Elevado coste<br><br>Requiere de equipos especializados<br><br>No detecta fusiones génicas |

**Tabla 5.** Ventajas y desventajas de las distintas técnicas moleculares orientadas al estudio de SNV/INDEL.

| **Alteraciones SNV/INDEL** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **IHQ** | **PCR + Sanger** | **PCR específica de alelo** | **ddPCR** | **NGS Dirigida o NGS No dirigida** |
| **Ventajas** | Rápida y económica<br><br>Permite analizar directamente el tejido tumoral | Económica para análisis regiones pequeñas<br><br>Útil para confirmar variantes detectadas por otras técnicas | Altamente sensible y específica<br><br>Económica y rápida<br><br>De fácil implementación | Alta sensibilidad (<1 % de frecuencia alélica) | Alta sensibilidad (>5 % de frecuencia alélica)<br><br>Detección de mutaciones conocidas y nuevas<br><br>Análisis de varios genes o del genoma completo en un mismo ensayo |
| **Desventajas** | Baja sensibilidad<br><br>Detecta efectos proteicos, no directamente la mutación<br><br>No disponible para todas las alteraciones | Baja sensibilidad para variantes con baja frecuencia alélica (<20 %).<br><br>No permite análisis masivo de genes y/o alteraciones en un un mismo gen<br><br>Tiempo de respuesta más elevado que PCR específica de alelo. | Detecta solo mutaciones conocidas.<br><br>No útil para análisis de múltiples mutaciones simultáneamente<br><br>No permite identificar nuevas variantes | Detecta solo mutaciones conocidas.<br><br>No útil para análisis de múltiples mutaciones simultáneamente<br><br>No permite identificar nuevas variantes | Alto coste<br><br>Tiempo de respuesta elevado<br><br>Requiere equipos específicos<br><br>Requiere análisis bioinformático complejo |

Tabla 6. Ventajas y desventajas de las distintas técnicas moleculares orientadas al estudio de Fusiones génicas.

| **Fusiones génicas** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **IHQ** | **FISH** | **RT-PCR** | **NGS Dirigida** | **n-counter** |
| **Ventajas** | Rápida y económica<br><br>Útil para FFPE<br><br>Fácil interpretación | Rápida<br><br>Útil para FFPE<br><br>Alta sensibilidad<br><br>Permite análisis en el tejido tumoral | Rápida y económica<br><br>Alta especificidad y sensibilidad<br><br>Requiere poca cantidad de ARN<br><br>Útil para confirmar variantes detectadas por otras técnicas | Identifica fusiones génicas conocidas y desconocidas<br><br>Permite análisis de múltiples fusiones en un mismo ensayo | Sensible para fusiones génicas conocidas<br><br>Alta robustez para ARN de muestras FFPE<br><br>Bajo tiempo de respuesta<br><br>De fácil interpretación<br><br>Menos costoso que NGS |
| **Desventajas** | Dependiente de la expresión proteica del producto de fusión<br><br>Una sola fusión génica por ensayo<br><br>No identifica el partner de la fusión | Una sola fusión génica por ensayo<br><br>No identifica el partner de la fusión<br><br>Requiere equipamiento especializado<br><br>Intrepretación compleja | Solo para fusiones previamente conocidas y seleccionadas.<br><br>Una sola fusión génica por ensayo<br><br>Dependiente de la calidad del ARN<br><br>No identifica fusiones nuevas o inusuales. | Coste elevado<br><br>Dependiente de la calidad del ARN<br><br>Requiere de infraestructura avanzada y análisis bioinformático complejo<br><br>Elevado tiempo de respuesta<br><br>Técnica limitada si el contenido tumoral es bajo (<20 %) | No permite el análisis global del genoma<br><br>Requiere de infraestructura<br><br>No identifica fusiones nuevas o inusuales |

## IMPLEMENTACIÓN DEL ESTUDIO MOLECULAR DE LOS SARCOMAS

### Indicaciones generales del uso de técnicas de biología molecular en sarcomas

**Como herramienta diagnóstica,** las técnicas moleculares deben ser indicadas por el patólogo de manera dirigida y no exploratoria para:

- Confirmar sospechas diagnósticas de entidades con alteraciones moleculares características, especialmente:
  - Si tienen una presentación clínica, morfológica o inmunohistoquímica inusual.
  - Si nuestra sospecha es la de un sarcoma ultra-raro en el que tenemos poca experiencia.
- Realizar el diagnóstico diferencial entre entidades con patrones morfológicos similares y alteraciones moleculares distintas.
- Excepcionalmente para intentar filiar adecuadamente neoplasias poco diferenciadas sin características morfológicas o inmunohistoquímicas que permitan clasificarlas. Pero en este caso, para que sea rentable, este tipo de exploración debe limitarse a:
  - Neoplasias con celularidad monótona sea cual sea el patrón morfológico que tenga (célula redonda, fusocelular, epitelioide)
  - En los tumores pleomórficos (en general con cariotipo complejo) existen hoy en día pocas alteraciones moleculares con utilidad diagnóstica, por lo que la utilización de dichas técnicas con fines diagnósticos queda limitada a:
    - Confirmar o descartar la amplificación de *MDM2* ante la sospecha de liposarcomas desdiferenciados [14].
    - Tumores pleomórficos con sospecha de PEComa pero poca expresión inmunohistoquímica de marcadores melánicos o musculares (buscar mutaciones puntuales o deleciones de *TSC1/TSC2*) [57].

Como se ha mencionado previamente, para determinar el tratamiento en los sarcomas, el diagnóstico específico del tipo de sarcoma tiene una mayor relevancia que las determinaciones moleculares específicas. No obstante, existen situaciones en las que la búsqueda de dianas moleculares estaría indicada [58].

### Las principales indicaciones de estudios moleculares con fines terapéuticos en sarcomas son

- **Contexto clínico-morfológico-inmunohistoquímico** que sugiera la presencia de alteraciones moleculares diana, como en tumores asociados a reordenamientos genéticos de ***NTRK, ALK, BRAF, RAS, ROS1, MET, RET,*** u otras quinasas [6, 7, 58]. Estos tumores se asocian principalmente a tres patrones morfológicos:
  - Tumor miofibroblástico inflamatorio, principalmente relacionado con reordenamientos de ALK o ROS1.
  - Tumores fusocelulares, con un patrón tipo fibrosarcoma o tumor maligno de la vaina nerviosa periférica (MPNST), especialmente cuando muestran coexpresión inmunohistoquímica de S100 y CD34.
  - Tumor neural tipo lipofibromatosis.
- **Casos clínicos específicos**, como en neoplasias pleomórficas o con cariotipos complejos, diseminadas y sin opciones terapéuticas conocidas.
- En el contexto de **ensayos clínicos** que así lo requieran.

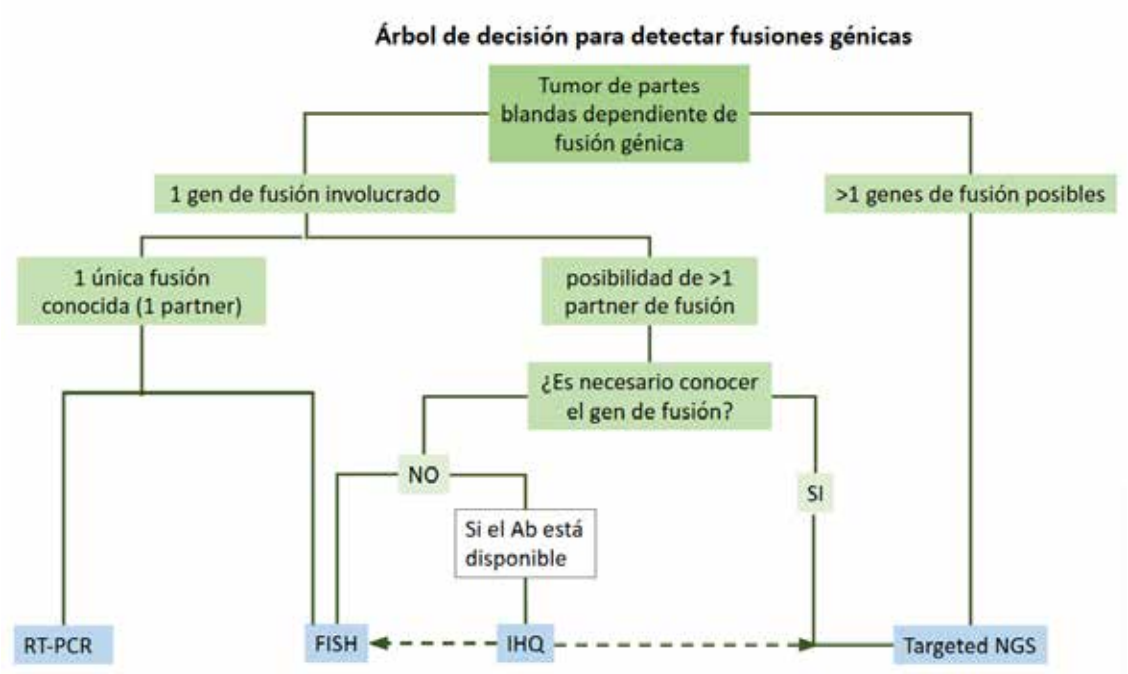
**Indicaciones específicas de la NGS dirigida en sarcomas en la práctica clínica habitual**

**Como herramienta diagnóstica, más concretamente, se consideran indicaciones adecuadas para NGS dirigida**

- Sarcomas de partes blandas con patrón de células redondas.
- Casos en los que la morfología sugiere diagnósticos asociados a fusiones génicas, de presentación clínica o morfológica poco habitual, en las que necesitamos conocer ambos genes involucrados o no tenemos otra técnica disponible para demostrarla.
- Sarcomas de partes blandas con patrón fusocelular/epitelioide, con celularidad relativamente monótona, en los que el análisis por IHQ y FISH no permitió alcanzar un diagnóstico definitivo o se prevén más de 2 FISH para llegar al mismo.
- Todos los sarcomas del estroma endometrial.

Ver árbol de decisión para valoración de fusiones génicas en sarcomas. (Figura 8).

**Figura 8.** Árbol de decisión de técnicas para detectar fusiones génicas


Árbol de decisión para detectar fusiones génicas
Tumor de partes blandas dependiente de fusión génica
1 gen de fusión involucrado
>1 genes de fusión posibles
1 única fusión conocida (1 partner)
posibilidad de >1 partner de fusión
¿Es necesario conocer el gen de fusión?
NO
SI
Si el Ab está disponible
RT-PCR
FISH
IHQ
Targeted NGS

**Las principales indicaciones de la NGS con fines terapéuticos en sarcomas son las** mismas comentadas para las técnicas moleculares en general, pero a continuación desglosamos algunos contextos clínico-patólogicos en los que tiene una especial relevancia:

- Estudio de mutaciones en GIST (panel ADN dirigido)
- Sospecha de neoplasias con fusiones génicas que representen dianas terapéuticas accionables (p. ej., NTRK, ALK, PDGFR) (RNA-seq dirigido para la detección de fusiones génicas) (ver punto 5.1.1.2)
- Cualquier caso de sarcoma metastásico o clínicamente avanzado, ya sea en la presentación inicial o durante el seguimiento, en el que el comité de sarcomas o el comité molecular lo requiera, bien por la ausencia de alternativas terapéuticas, bien por la necesidad de cumplir con los criterios de inclusión en un ensayo clínico.

**¿Como optimizar la preanalítica para asegurar resultados moleculares adecuados en los tumores de partes blandas?**

La preanalítica, entendida como el conjunto de procesos y manipulaciones realizados desde la obtención de la muestra hasta su procesamiento en el laboratorio, juega un papel fundamental en la preservación de la calidad del ADN y ARN. Estos ácidos nucleicos son esenciales para la realización de estudios moleculares, los cuales tienen una relevancia creciente en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de enfermedades, especialmente en patologías oncológicas. Una correcta gestión preanalítica es crucial para garantizar la fiabilidad de los resultados y evitar artefactos que puedan comprometer la interpretación clínica.

**Conservación del ADN y ARN**

- Preservación del ADN: Aunque el ADN es más estable que el ARN, puede sufrir daños por fragmentación o modificación química durante el proceso de fijación o debido a un almacenamiento prolongado en condiciones subóptimas. Estas alteraciones pueden dificultar su amplificación por PCR o comprometer la calidad de los estudios de secuenciación.
- Preservación del ARN: El ARN es particularmente vulnerable a la degradación debido a la acción de las RNasas, presentes tanto en las células como en el ambiente. Una manipulación cuidadosa, el uso de reactivos libres de RNasas y la congelación inmediata de las muestras son medidas imprescindibles para mantener su integridad. Sin embargo, en la actualidad, la mejora en las técnicas de extracción de ARN nos permiten realizar análisis de fragmentos pequeños en muestras parafinadas correctamente procesadas.

**Factores críticos en la fase preanalítica**

- **Selección de la Muestra** para Estudios Moleculares
  La muestra seleccionada para estudios moleculares debe cumplir con los siguientes criterios para garantizar la calidad y fiabilidad de los análisis:
  - **Alta densidad de celularidad tumoral**: Se recomienda seleccionar regiones con la mayor concentración posible de células tumorales para asegurar la obtención de cantidades adecuadas de ADN o ARN de origen neoplásico.
  - **Proporción de células tumorales respecto a células no tumorales**: Un elevado porcentaje de células tumorales es esencial para facilitar la detección de alteraciones moleculares y minimizar la interferencia generada por el ADN o ARN de células no neoplásicas. En el contexto de la secuenciación de nueva generación (NGS), no solo es fundamental seleccionar áreas con alta celularidad tumoral, sino que también es imprescindible que el patólogo informe al biólogo molecular sobre el porcentaje estimado de células tumorales, ya que este dato es crítico para la interpretación de los resultados.
  - **Evitar regiones necróticas**: La presencia de necrosis puede comprometer la integridad de los ácidos nucleicos y generar interferencias en las distintas fases del procesamiento molecular.

  En casos seleccionados, el patólogo deberá identificar y seleccionar la región con mayor densidad y proporción de células tumorales, evitando áreas necróticas, para su **posterior macro o microdisección** antes de la extracción de ácidos nucleicos.
- **Obtención de la muestra:** La calidad del material biológico comienza en el momento de la extracción. Es esencial minimizar el tiempo transcurrido entre la obtención de la muestra y su procesamiento inicial para evitar la degradación de los ácidos nucleicos. Por ejemplo, los tejidos deben ser fijados o congelados rápidamente tras la biopsia o cirugía. Para minimizar el efecto de los tiempos imprescindibles se han diseñado estrategias como la de envasar las piezas quirúrgicas al vacío y preservarlas a 4ºC desde que se obtienen en el quirófano hasta que se puede iniciar su procesamiento y fijación en el laboratorio de anatomía patológica.

- **Fijación del tejido:** La fijación con formalina tamponada al 10 % es el método más utilizado en la práctica clínica para conservar la arquitectura tisular y celular. Sin embargo, un tiempo de fijación inadecuado (inferior a 6 horas o superior a 48 horas) puede alterar significativamente la integridad del ADN y ARN, generando fragmentación o modificación química de estos.
- **Criopreservación:** Para aplicaciones que requieren una alta calidad de ARN, como la secuenciación de transcriptomas o el análisis de expresión génica, la congelación inmediata en nitrógeno líquido y el almacenamiento a -80 °C son indispensables. Este método reduce al mínimo la actividad de las ribonucleasas (RNasas), que son altamente destructivas para el ARN.
- **Manipulación y transporte:** Las condiciones de transporte deben ser controladas para evitar fluctuaciones de temperatura y tiempos prolongados que favorezcan la degradación de los ácidos nucleicos. El uso de medios de transporte adecuados, como hielo seco para muestras congeladas o fijadores estabilizantes, es fundamental.
- **Almacenaje:** el tiempo de almacenaje de las muestras, tanto de los bloques de parafina como de las muestras congeladas a -80ºC impacta en la calidad del ADN y RNA. Por este motivo, es importante conocer la antigüedad de la muestra antes de proceder con el análisis de la misma y optimizar las condiciones de estabilidad de temperatura y humedad en los almacenes correspondientes. En este sentido, el registro de temperaturas tanto en los almacenes de bloques de parafina, como especialmente en los congeladores de biobancos es imprescindible.

En resumen, el tratamiento adecuado de las muestras histológicas en la fase preanalítica es un requisito indispensable para garantizar la preservación de los ácidos nucleicos y, en consecuencia, la calidad de los estudios moleculares. Implementar protocolos estandarizados, minimizar los tiempos de manipulación y asegurar condiciones óptimas de transporte y almacenamiento son estrategias fundamentales que permiten obtener resultados confiables y reproducibles, contribuyendo así al avance de la medicina de precisión.

## POST ANALÍTICA

### ¿Cómo deben informarse los resultados de los distintos estudios moleculares?

### Estructura general del informe molecular

Los resultados de los estudios moleculares deben integrarse en un informe estructurado que garantice su correcta interpretación clínica. La estructura del informe debe incluir los siguientes elementos esenciales:

- Datos del paciente y la muestra
  - Identificación del paciente (nombre, número de historia clínica).
  - Origen de la muestra (biopsia, pieza quirúrgica, citología, etc.).
  - Fecha de toma de la muestra y de recepción en el laboratorio.
  - Tipo de tejido analizado.
  - Código de identificación de la muestra.
- Método empleado
  - Técnica utilizada (FISH, PCR, NGS, etc.).
  - Plataforma de análisis (ej. Illumina, Ion Torrent, NanoString, etc.).
  - Genes o regiones analizadas.
  - Sensibilidad y especificidad del ensayo.
- Resultados obtenidos
  - Hallazgos principales, con una descripción clara de las alteraciones detectadas (fusiones génicas, mutaciones SNV, amplificaciones, etc.).
  - Valores cuantitativos si procede (porcentaje de células con la alteración, número de copias, carga alélica).

    - Criterios de interpretación aplicados.
- Interpretación clínica
    - Relación de los hallazgos con la entidad diagnóstica sospechada.
    - Posibles implicaciones pronósticas y terapéuticas.
    - Comparación con bases de datos genómicas de referencia (COSMIC, Mitelman Database, OncoKB, etc.).
    - En el caso de resultados inciertos, recomendaciones sobre estudios adicionales.
- Limitaciones del estudio
    - Cobertura del panel de genes utilizado y posibles falsos negativos.
    - Calidad del material biológico (ej. ARN degradado, baja celularidad).
    - Limitaciones de la técnica aplicada en comparación con otras disponibles.
- Conclusiones y recomendaciones
    - Resumen de los hallazgos más relevantes.
    - Recomendaciones diagnósticas, pronósticas o terapéuticas derivadas del resultado.
    - Necesidad de consulta con el comité molecular si procede.
- Firmas y validación
    - Nombre y firma del patólogo o biólogo molecular responsable.
    - Validación por parte de un segundo especialista en caso necesario.

**Consideraciones específicas según la técnica utilizada**

- Inmunohistoquímica (IHQ)
    - El informe debe indicar el marcador evaluado, el patrón de tinción observado (difuso, focal, intensidad de la señal), y su correlación con la entidad diagnóstica.
    - Ejemplo: Expresión positiva de TLE1 en >80 % de células tumorales, apoyando el diagnóstico de sarcoma sinovial.
- FISH
    - El informe debe especificar la sonda utilizada y la proporción de células con señal positiva.
    - Ejemplo: Amplificación de *MDM2* detectada en el 85 % de células tumorales, compatible con liposarcoma desdiferenciado.
- RT-PCR
    - Debe incluir el transcrito detectado y su relevancia clínica.
    - Ejemplo: Detección de la fusión *FOXO1::PAX3* en ARN, confirmando el diagnóstico de rabdomiosarcoma alveolar.
- NGS

La nomenclatura debe seguir el sistema HGNC (*EWSR1::FLI1*, no EWS-FLI).

Indicar si el halazgo es confirmado por otras técnicas o si requiere validación adicional.

Considerar la inclusión de información sobre variantes de significado incierto (VUS) y su posible interpretación.

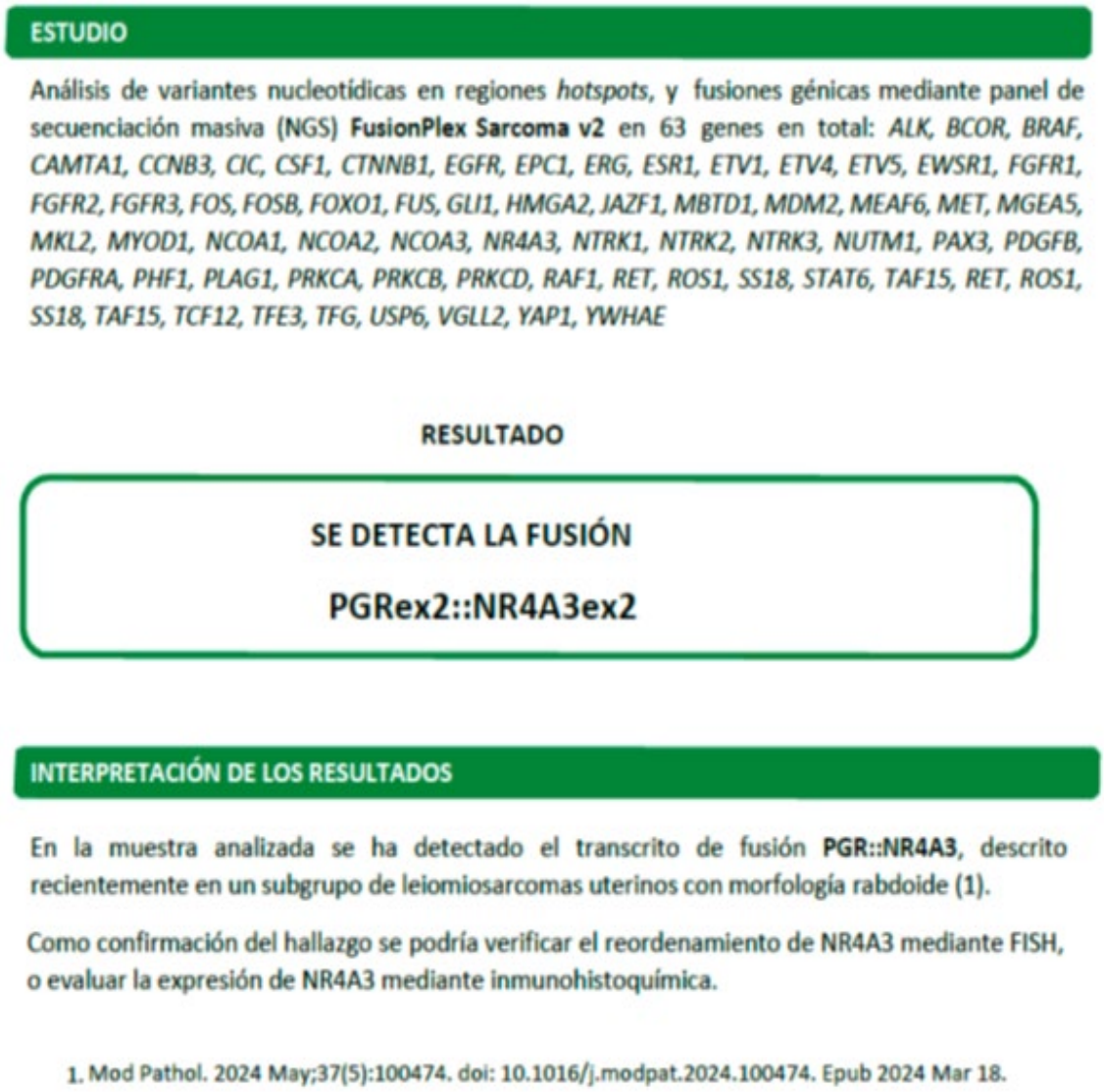
- Cómo informar los ensayos NGS para GF:

El informe de NGS debe mostrar claramente el GF detectado siguiendo las indicaciones de HGNC (HUGO Gene Nomenclature Committee), que recomienda utilizar el símbolo «**::**» como separador entre los símbolos de los genes que participan en la fusión. En nuestro caso también especificamos los exones (ex) o intrones fusionados (Figura 9).

El informe debe incluir una sección para la interpretación del resultado. En el caso de que se trate de un GF patognomónico establecido (p.e. *EWRS1::FLI1* en sarcoma de Ewing), se indicará la entidad o entidades correspondientes asociadas a dicho GF. Cuando se trate de un GF no descrito o novedoso, que es recomendable confirmar con técnicas ortogonales, también deben incluirse en el

informe las referencias bibliográficas que ayuden a poner en contexto el resultado con los hallazgos relacionados en la literatura (Figura 9).

**Figura 9.** Detalle de informe FusionPlex Sarcoma v2. Se detalla la cobertura del panel y el resultado del ensayo especificando el GF con nomenclatura HGNC. Se incluye también una sección de interpretación del resultado, donde se indica el antecedente bibliográfico que podría ayudar a clasificar la entidad**.** La fusión identificada, *PGR::NR4A3*, es novedosa y podría definir un nuevo grupo de leiomiosarcomas uterinos.



**ESTUDIO**

Análisis de variantes nucleotídicas en regiones *hotspots*, y fusiones génicas mediante panel de secuenciación masiva (NGS) **FusionPlex Sarcoma v2** en 63 genes en total: *ALK, BCOR, BRAF, CAMTA1, CCNB3, CIC, CSF1, CTNNB1, EGFR, EPC1, ERG, ESR1, ETV1, ETV4, ETV5, EWSR1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FOS, FOSB, FOXO1, FUS, GLI1, HMGA2, JAZF1, MBTD1, MDM2, MEAF6, MET, MGEA5, MKL2, MYOD1, NCOA1, NCOA2, NCOA3, NR4A3, NTRK1, NTRK2, NTRK3, NUTM1, PAX3, PDGFB, PDGFRA, PHF1, PLAG1, PRKCA, PRKCB, PRKCD, RAF1, RET, ROS1, SS18, STAT6, TAF15, RET, ROS1, SS18, TAF15, TCF12, TFE3, TFG, USP6, VGLL2, YAP1, YWHAE*

**RESULTADO**

**SE DETECTA LA FUSIÓN**

**PGRex2::NR4A3ex2**

**INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

En la muestra analizada se ha detectado el transcrito de fusión **PGR::NR4A3**, descrito recientemente en un subgrupo de leiomiosarcomas uterinos con morfología rabdoide (1).

Como confirmación del hallazgo se podría verificar el reordenamiento de NR4A3 mediante FISH, o evaluar la expresión de NR4A3 mediante inmunohistoquímica.

1. Mod Pathol. 2024 May;37(5):100474. doi: 10.1016/j.modpat.2024.100474. Epub 2024 Mar 18.

El informe debe recoger además una descripción metodológica sucinta del ensayo, pero que especifique claramente la cobertura de los genes que se interrogan. Es importante que el facultativo que realice la petición compruebe que el panel es adecuado para la alteración característica del tipo tumoral de sospecha diagnóstica. Como parte del informe se pueden incluir también las métricas de calidad que afectan al ensayo, y que pueden agruparse en preanalíticas y analíticas, citamos a continuación las más relevantes:

Métricas preanalíticas:

- Proporción de tumor y grado de celularidad del tejido. Generalmente se aceptan muestras con más de 70 % de tumor y alta celularidad.
- Concentración y calidad del ARN extraído. En el caso de los paneles FusionPlex se realiza un test de amplificación (preseq) para comprobar si el ARN es adecuado para preparar la librería. Para otros paneles se usan los valores RIN o DV200 determinados con bioanalizadores.

Métricas analíticas:

- Número total de lecturas. El panel FusionPlex Sarcoma v2 requiere un mínimo de 2 millones de lecturas para dar suficiente cobertura a todos los genes que se analizan.
- Proporción de lecturas mapeadas («on target»).

Por último, se pueden especificar también los criterios de filtrado que descartan GF irrelevantes o artefactuales (falsos positivos). Generalmente se establece un umbral mínimo de número de lecturas únicas (deduplicadas) que cubren el punto de rotura en el GF. Si no se alcanza este umbral, el GF se descarta a menos que se trate de una alteración patognomónica establecida.

## PAPEL DEL COMITÉ MOLECULAR EN EL ESTUDIO DE TUMORES DE PARTES BLANDAS

El diagnóstico y manejo de los tumores de partes blandas requieren un enfoque multidisciplinar, en el que el **comité molecular** juega un papel clave en la interpretación de hallazgos genéticos, su correlación con la morfología tumoral y su implicación clínica. Dada la heterogeneidad de estos tumores y la complejidad de las alteraciones moleculares que presentan, la evaluación de los resultados no puede realizarse de forma aislada, sino que debe integrarse en un contexto clínico-patológico más amplio.

El comité molecular es una herramienta fundamental para:

- Garantizar una interpretación experta de los estudios moleculares.
- Determinar la relevancia diagnóstica, pronóstica y terapéutica de los hallazgos.
- Definir estrategias óptimas de caracterización molecular en casos complejos.
- Facilitar el acceso a tratamientos dirigidos y ensayos clínicos.

### Composición del Comité Molecular

El comité molecular debe estar compuesto por un equipo multidisciplinar con expertos en distintas áreas:

- **Patólogos:** Interpretación de las alteraciones genómicas y su relación con la morfología del tumor.
- **Biólogos moleculares y genetistas clínicos:** Ayuda en la selección del test diagnóstico más adecuado. Análisis de datos NGS y evaluación de la relevancia de variantes detectadas.
- **Farmacólogos clínicos:** Valoración de la aplicabilidad de terapias dirigidas basadas en los hallazgos moleculares.
- **Radiólogos y especialistas en medicina nuclear:** Integración de los hallazgos con la imagen para mejorar la caracterización del tumor.

- **Oncólogos médicos y cirujanos oncólogos:** Evaluación del impacto de las alteraciones moleculares en el tratamiento y pronóstico del paciente.
- **Coordinadores de ensayos clínicos:** Identificación de oportunidades terapéuticas experimentales.

En casos específicos, también pueden participar otros especialistas, como cirujanos ortopédicos en sarcomas óseos o especialistas en cuidados paliativos en tumores avanzados.

## Funciones del Comité Molecular en el Diagnóstico y Manejo de los Tumores de Partes Blandas

### Evaluación diagnóstica

Uno de los principales roles del comité es integrar los hallazgos moleculares con los datos clínico-patológicos para alcanzar un diagnóstico preciso. Esto es particularmente relevante en los sarcomas, donde:

- Muchas entidades comparten alteraciones moleculares similares, dificultando la clasificación basada únicamente en estudios genéticos.
- Algunas fusiones génicas o mutaciones pueden aparecer en distintos tipos tumorales, lo que exige una correlación con la morfología y la inmunohistoquímica.
- Existen entidades emergentes con perfiles moleculares aún no completamente caracterizados, requiriendo validación mediante técnicas adicionales.

### Validación de hallazgos moleculares

El comité revisa los resultados de los estudios NGS, FISH, RT-PCR o inmunohistoquímica y valora:

- Fiabilidad del hallazgo (cantidad y calidad del material analizado, cobertura del panel, control de calidad del test).
- Necesidad de estudios complementarios (confirmación de variantes de significado incierto, detección de nuevas alteraciones).
- Correlación con la literatura científica y bases de datos genómicas (OncoKB, COSMIC, Mitelman Database).

### Selección de estrategias terapéuticas

La información molecular no solo tiene valor diagnóstico, sino también **pronóstico y terapéutico**. El comité molecular analiza:

- Si el paciente puede beneficiarse de **terapias dirigidas** (ej. inhibidores de TRK en tumores con fusiones de *NTRK*).
- Si existen **ensayos clínicos** en los que pueda participar el paciente.
- Si es necesario ampliar estudios para identificar nuevas dianas terapéuticas.

Ejemplo: Un sarcoma de células claras con la fusión *EWSR1::ATF1* podría beneficiarse de inhibidores de ERK en un ensayo clínico específico.

### Revisión de casos con resultados no concluyentes

Algunos estudios moleculares pueden arrojar resultados inciertos o inesperados. El comité molecular ayuda a:

- Determinar si es necesario repetir el análisis con otra técnica.

- Definir si el hallazgo es clínicamente relevante o si podría tratarse de una variante de significado incierto.
- Proponer estrategias alternativas para caracterizar mejor el tumor.

Ejemplo: Un resultado de NGS con una fusión *CIC::DUX4* en un sarcoma indiferenciado podría hacer reconsiderar el diagnóstico hacia un sarcoma con reordenamiento de CIC.

**Impacto del Comité Molecular en la Práctica Clínica**

La implementación de un comité molecular en el estudio de tumores de partes blandas tiene múltiples beneficios:

- Mejora en la precisión diagnóstica, evitando errores en la clasificación de sarcomas morfológicamente similares.
- Optimización del uso de técnicas moleculares, evitando estudios innecesarios y maximizando la información obtenida.
- Mayor acceso a terapias dirigidas, asegurando que los pacientes con alteraciones accionables reciban el tratamiento adecuado.
- Reducción del tiempo hasta el diagnóstico definitivo, permitiendo tomar decisiones terapéuticas más rápidas.
- Facilitación del acceso a ensayos clínicos, aumentando las opciones terapéuticas en pacientes sin alternativas estándar.

En conclusión, el comité molecular es un pilar fundamental en el diagnóstico y tratamiento de los tumores de partes blandas. Su papel es clave para integrar la información molecular con el contexto clínico-patológico, facilitando decisiones diagnósticas y terapéuticas de alto impacto en la práctica oncológica. La implementación de estos comités en centros de referencia permite un manejo más preciso y personalizado de estos tumores, mejorando significativamente el pronóstico y la calidad de vida de los pacientes.

## ¿CÓMO Y CUÁNDO DEBEMOS REALIZAR LA VALIDACIÓN DE DETERMINADOS HALLAZGOS?

La validación de los hallazgos moleculares es un paso fundamental en el análisis de tumores de partes blandas, especialmente en aquellos casos en los que los resultados pueden tener un impacto diagnóstico, pronóstico o terapéutico significativo. La confirmación de determinados hallazgos mediante técnicas complementarias es clave para garantizar la fiabilidad de los resultados y evitar errores en la interpretación clínica.

En general, la validación de hallazgos moleculares debe realizarse cuando:

- Existen hallazgos inesperados o no concordantes con la morfología y la inmunohistoquímica del tumor.
- Se detectan fusiones génicas, SNV o CNV de significado incierto.
- Se trata de alteraciones poco frecuentes o no descritas previamente en la literatura.
- Se necesita confirmación ortogonal antes de tomar decisiones terapéuticas.
- Se observan fallos técnicos o indicadores de baja calidad en la prueba original.

**Estrategias para la Validación de Hallazgos Moleculares**

La validación puede realizarse mediante **técnicas ortogonales**, es decir, utilizando metodologías diferentes a la empleada en el análisis inicial, con el objetivo de confirmar la presencia y relevancia de la alteración.

**Validación de SNV (Mutaciones Puntuales) y Indels**

Las mutaciones detectadas por **NGS** en tumores de partes blandas pueden necesitar validación en los siguientes casos:

- Mutaciones en genes con baja cobertura de lectura o calidad deficiente de la muestra.
- Mutaciones de significado incierto (VUS).
- Casos en los que se necesite alta especificidad antes de tomar decisiones terapéuticas.

**Validación de Fusiones Génicas y Reordenamientos Cromosómicos**

Las fusiones génicas detectadas por **NGS** requieren confirmación en casos específicos, como:

- Fusiones nuevas o infrecuentes no descritas en bases de datos como COSMIC o Mitelman.
- Fusiones con baja cobertura de lecturas en NGS (<10 lecturas únicas).
- Casos en los que la morfología no es concordante con la fusión detectada.

**Técnicas de validación recomendadas**

- RT-PCR + secuenciación Sanger: Ideal para confirmar transcritos de fusión en ARN.
- FISH (hibridación in situ fluorescente): Permite visualizar reordenamientos a nivel de ADN en núcleos interfásicos.
  Ejemplo: Un resultado de NGS con fusión *CIC::DUX4* en un sarcoma pleomórfico indiferenciado podría requerir confirmación con FISH para reordenamientos de **CIC**.
- PCR-Sanger: Ideal para SNV en regiones hotspot (ej. mutación de CTNNB1 en fibromatosis desmoide).
- PCR: Útil para mutaciones accionables como BRAF V600E.

**Cuándo no es necesaria la validación**

No es imprescindible validar hallazgos en los siguientes casos:

- Alteraciones bien establecidas y concordantes con la morfología y la inmunohistoquímica.
- Hallazgos con alta cobertura de lectura y calidad en NGS.
- Fusiones génicas descritas previamente en la literatura con evidencia suficiente.
- Mutaciones somáticas conocidas con frecuencia alélica alta (>20 %) y buena calidad de secuenciación.

Ejemplo: Una fusión *EWSR1::FLI1* detectada por NGS en un tumor con morfología típica de sarcoma de Ewing no requiere validación adicional si la calidad del ensayo es adecuada.

**Implementación de un Protocolo de Validación en la Práctica Clínica**

Para asegurar la reproducibilidad y precisión en la validación de hallazgos, se recomienda:

- Definir criterios específicos para determinar cuándo se necesita validación.
- Estandarizar las técnicas ortogonales disponibles en el laboratorio según la alteración detectada.
- Integrar los resultados en el informe clínico, indicando si la alteración ha sido confirmada.
- Establecer un circuito de revisión en el comité molecular, para discutir casos inciertos o atípicos.

En resumen, la validación de hallazgos moleculares es un proceso crítico en el diagnóstico de tumores de partes blandas. La aplicación de **técnicas ortogonales** permite confirmar la relevancia de

las alteraciones detectadas, asegurando que los resultados sean **fiables y clínicamente útiles**. Un protocolo bien definido de validación ayuda a optimizar la toma de decisiones diagnósticas y terapéuticas, garantizando la **precisión y reproducibilidad** de los estudios moleculares en la práctica clínica.

**Gestión de la calidad**

La calidad en los estudios moleculares es fundamental para garantizar la precisión y reproducibilidad en el diagnóstico de sarcomas. Dado que muchas de estas neoplasias están definidas por alteraciones genéticas específicas, el control de calidad debe abarcar todas las fases del análisis molecular: preanalítica, analítica y postanalítica.

**Control de calidad en cada fase**

La calidad del estudio molecular debe controlarse en tres niveles:

- Preanalítico:
  - Fijación de la muestra en formalina ≤24h.
  - Material con >20 % de celularidad tumoral.
  - Control de ARN/ADN (Qubit, Bioanalyzer).
- Analítico:
  - NGS → Mínimo 10 lecturas únicas por fusión.
  - FISH → Evaluación por dos analistas independientes.
- Postanalítico:
  - Revisión de resultados inesperados.
  - Discusión en comité molecular.
  - Comparación con bases de datos internacionales.
    Tiempos de demora aceptables (FISH: 6 días; Sanger: 10 días; NGS-ADN: 6 días; NGS-ARN: 30 días).

Ejemplo: Implementar un panel de referencia interno con fusiones validadas (EWSR1, SS18, BCOR) para garantizar precisión.

**Módulo Específico de Gestión de Calidad de la SEAP de Fusiones en Sarcomas**

Proponemos un módulo específico dentro del Programa de Gestión de calidad de la SEAP para estandarizar y asegurar la calidad en la detección de fusiones génicas en sarcomas. En este módulo deberíamos abordar al menos estos aspectos:

- Estandarización: Protocolos uniformes de preanalítica y validación.
- Controles de calidad: Panel de referencia con muestras positivas.
- Validación ortogonal: FISH o RT-PCR para hallazgos críticos.
- Auditoría interna: Revisión de casos y detección de errores en interpretación.

Ejemplo de indicadores de calidad:

- Concordancia NGS-RT-PCR >95 %.
- Reducción de falsos negativos en FISH.
- Registro de validaciones ortogonales semestrales.

En este sentido ya existen algunas iniciativas de intercomparativa entre hospitales a modo de control de calidad externo en diagnóstico molecular de sarcomas. Ante la ausencia de un control de calidad reglado por una sociedad científica, se decide organizar un control de calidad externo con verificación de los resultados de los análisis de reordenamientos en los genes *ALK, EWSR1, FUS, FOXO1,*

*DDIT3* y *SS18* (*SYT*), *COL1A::PDGFB, USP6*, amplificaciones de *MDM2* y deleciones homozigóticas de *CDKN*2A mediante la técnica FISH y los análisis de mutaciones de los genes *H3F3A, IDH1, IDH2, KIT, PDGFRA* y *CTNNB1* por PCR y secuenciación directa por método Sanger, en dos servicios distintos que utilicen la misma tecnología (Hospital Universitario de la Vall d'Hebron y Hospital de la Santa Creu i Sant Pau).

**Coste-efectividad**

La incorporación de estudios moleculares en sarcomas ha demostrado ser coste-efectiva al mejorar la precisión diagnóstica y optimizar el tratamiento. La heterogeneidad genética de estos tumores justifica el uso de técnicas como la **secuenciación de próxima generación (NGS)**, que permite detectar múltiples alteraciones simultáneamente, frente a pruebas secuenciales de un solo gen (SgT).

**Impacto en la toma de decisiones clínicas**

- Diagnóstico más preciso: La clasificación molecular ha redefinido subtipos de sarcomas, permitiendo evitar diagnósticos erróneos y reduciendo el uso de tratamientos ineficaces.
- Optimización del tratamiento: La identificación de fusiones accionables (*NTRK, ALK, ROS1*) permite el acceso a terapias dirigidas, evitando quimioterapias de escasa eficacia.
- Reducción de tiempos y costes indirectos: Estudios como Arriola et al. muestran que NGS reduce la necesidad de rebiopsias, acorta los tiempos de diagnóstico y facilita la inclusión en ensayos clínicos, impactando positivamente en la calidad de vida de los pacientes [59].

**Comparación de costes**

Aunque el NGS tiene un coste inicial mayor que las pruebas convencionales, su **rentabilidad se evidenciará en el largo plazo porque**:

- Evita múltiples pruebas aisladas, reduciendo el coste global del diagnóstico.
- Disminuye hospitalizaciones y toxicidades innecesarias, al personalizar el tratamiento.
- Mejora la supervivencia ajustada a calidad de vida (QALYs), criterio clave en coste-efectividad.

El proyecto IMPERAS-extended, que está en curso hasta 2028, tiene como uno de sus objetivos verificar esta hipótesis, hasta ahora no confirmada en sarcomas.

Ejemplo: En tumores indiferenciados, un panel NGS de 600-800€ puede reemplazar pruebas convencionales que acumulan >1.500€ sin ofrecer un diagnóstico claro [60].

En resumen, creemos que el estudio molecular en sarcomas es una inversión eficiente, optimizando recursos sanitarios y mejorando resultados clínicos. La implementación de estrategias centralizadas de NGS (ver apartado 4.6) y algoritmos de priorización garantizará su impacto coste-efectivo en la práctica clínica.

**¿Qué hacer si mi hospital no tiene la tecnología adecuada para la realización de estas pruebas? Trabajo en red.**

El trabajo en red y la existencia de centros de referencia para el diagnóstico de los sarcomas se considera un pilar fundamental en el diagnóstico de los sarcomas en todas las guías nacionales e internacionales. La importancia de la colaboración entre centros para el diagnóstico de esta patología viene dada por:

- Acceso a tecnologías avanzadas: Las técnicas moleculares, como la secuenciación de nueva generación (NGS), la hibridación in situ por fluorescencia (FISH) y la PCR cuantitativa, requieren

equipamiento sofisticado, así como personal altamente capacitado, pero lo más importante reactivos específicos dirigidos a evaluar la presencia o ausencia de alteraciones moleculares que se encuentran en los sarcomas y no en otros tumores como carcinomas o melanomas. Estos recursos no siempre están disponibles en todos los centros, por lo que los centros de referencia facilitan su implementación. Es importante que exista una coordinación entre los centros de referencia y el resto de centros, que debería ser mediada desde las instituciones gubernamentales de cada comunidad autónoma en coordinación con el gobierno central.

- Experiencia especializada: La interpretación de los resultados moleculares en sarcomas es altamente compleja y exige la participación de patólogos y biólogos moleculares con experiencia específica en este grupo de tumores. Los centros de referencia concentran a estos especialistas, garantizando diagnósticos más precisos y homogéneos.
- Volumen de casos: Dado que los sarcomas son tumores raros, la centralización en centros de referencia permite un volumen de casos adecuado para desarrollar experiencia diagnóstica, validar nuevas metodologías y participar en estudios de investigación colaborativa.
- Reducción de desigualdades: El trabajo en red facilita que pacientes de centros menos equipados o con menor experiencia tengan acceso a un diagnóstico molecular de calidad a través de la derivación de muestras o colaboraciones entre instituciones.

Ejemplos de trabajo en red para el diagnóstico de los Sarcomas:

- RRePS (Francia) (https://rreps.sarcomabcb.org): En Francia, la Red de Referencia en Patología de Sarcomas (RRePS) es un ejemplo destacado de centralización diagnóstica. Esta red agrupa a patologos expertos y laboratorios especializados que colaboran en la revisión histológica y molecular de casos de sarcomas. Gracias a esta organización, se ha logrado mejorar la precisión diagnóstica, garantizar un acceso equitativo a las técnicas avanzadas y fomentar la investigación traslacional.
- Proyecto IMPERAS (España) (www.proyectoimperas.com): En España, el proyecto IMPERAS ha establecido una red de colaboración entre centros hospitalarios, laboratorios de patología molecular y grupos de investigación. Este proyecto permite la centralización del análisis molecular avanzado y fomenta la implementación de técnicas como la NGS. Además, IMPERAS promueve la estandarización de protocolos diagnósticos y la formación de profesionales. A día de hoy este proyecto está en fase de investigación, financiado por diferentes organismos no gubernamentales, por lo que está abierto a todos los centros nacionales previa tramitación de la aceptación por el comité de ética de cada centro. El objetivo final del proyecto es establecer junto a las instituciones gubernamentales los circuitos nacionales de este trabajo en red para aportar equidad en el diagnóstico del sarcoma a los pacientes de todo el país.

El trabajo en red y la centralización en centros de referencia son pilares fundamentales para el diagnóstico molecular de sarcomas. Estas estrategias permiten optimizar los recursos disponibles, garantizar diagnósticos precisos y equitativos, y avanzar en la investigación de estos tumores complejos. Experiencias como el proyecto IMPERAS en España y la red RRePS en Francia demuestran que la colaboración interdisciplinar e interinstitucional mejora significativamente los resultados en el manejo de los sarcomas.

## CONCLUSIONES

Las herramientas moleculares son esenciales en el diagnóstico de los sarcomas, pero su utilidad clínica depende de una interpretación experta en el contexto **clínico, morfológico y molecular**. Esta integración debe realizarse en **comités multidisciplinares especializados**, asegurando un enfoque holístico que maximice la precisión diagnóstica y la personalización del tratamiento.

Para garantizar la fiabilidad y reproducibilidad de los estudios moleculares, es fundamental una **correcta fase preanalítica**, que incluya una adecuada selección y procesamiento de las muestras. Factores como la calidad del material, el tiempo de fijación y la proporción de celularidad tumoral influyen directamente en la validez de los resultados y deben ser rigurosamente controlados.

En la **fase postanalítica**, la correcta estructuración de los informes, siguiendo criterios estandarizados y referencias a bases de datos de variantes, permite una interpretación clara y clínicamente relevante. La validación de hallazgos mediante técnicas ortogonales (FISH, RT-PCR, Sanger) es clave cuando se detectan alteraciones poco frecuentes o con impacto terapéutico directo.

El diagnóstico molecular de los sarcomas requiere perfiles profesionales altamente especializados, incluyendo **patólogos, biólogos moleculares y oncólogos**, con experiencia en la interpretación de alteraciones genéticas. La implementación de **redes de trabajo y centros de referencia regionales o nacionales** optimiza el acceso a tecnologías avanzadas y reduce la variabilidad interlaboratorio.

Desde la perspectiva de **gestión de la calidad**, la armonización de protocolos, la participación en programas de **intercomparación** y la implementación de paneles de control son esenciales para garantizar resultados fiables y comparables entre centros.

Finalmente, la **coste-efectividad** es un aspecto determinante en la selección de la metodología molecular. Técnicas como **FISH, RT-PCR y Sanger** siguen siendo rentables en estudios dirigidos, mientras que **NGS** dirigida es más eficiente en casos complejos donde se requiere la evaluación simultánea de múltiples genes. Existen además otras técnicas emergentes, generalmente ensayos no dirigidos más costosos y complejos, que podrían contemplarse como ensayos diagnósticos alternativos de segunda línea, a los que recurrir en casos con diagnóstico diferencial complicado (ver **Apéndice. Tecnologías alternativas de segunda línea**, para su descripción detallada). La integración estratégica de estas herramientas en función del contexto clínico y organizativo es clave para optimizar recursos y maximizar el impacto en la práctica clínica.

En definitiva, el abordaje molecular de los sarcomas debe basarse en un **modelo estructurado, multidisciplinar y coste-efectivo**, garantizando la máxima calidad diagnóstica con el menor impacto en los recursos sanitarios.

### Bibliografía


1. Fletcher CDM BJ, Hogendoorn PCW, Mertens F, editor. WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone2020.
2. Barr FG, Zhang PJ. The impact of genetics on sarcoma diagnosis: an evolving science. Clin Cancer Res. 2006;12(18):5256-7. doi: 10.1158/1078-0432.Ccr-06-1321. PubMed PMID: 17000654.
3. Parker BC, Zhang W. Fusion genes in solid tumors: an emerging target for cancer diagnosis and treatment. Chin J Cancer. 2013;32(11):594-603. doi: 10.5732/cjc.013.10178. PubMed PMID: 24206917; PubMed Central PMCID: PMCPMC3845546.
4. Bovée JV, Hogendoorn PC. Molecular pathology of sarcomas: concepts and clinical implications. Virchows Arch. 2010;456(2):193-9. Epub 20090929. doi: 10.1007/s00428-009-0828-5. PubMed PMID: 19787372; PubMed Central PMCID: PMCPMC2828555.

5. Gounder MM, Agaram NP, Trabucco SE, Robinson V, Ferraro RA, Millis SZ, et al. Clinical genomic profiling in the management of patients with soft tissue and bone sarcoma. Nat Commun. 2022;13(1):3406. Epub 2022/06/16. doi: 10.1038/s41467-022-30496-0. PubMed PMID: 35705558; PubMed Central PMCID: PMCPMC9200814

6. Casali PG, Blay JY, Abecassis N, Bajpai J, Bauer S, Biagini R, et al. Gastrointestinal stromal tumours: ESMO-EURACAN-GENTURIS Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2022;33(1):20-33. Epub 20210921. doi: 10.1016/j.annonc.2021.09.005. PubMed PMID: 34560242.

7. Gronchi A, Miah AB, Dei Tos AP, Abecassis N, Bajpai J, Bauer S, et al. Soft tissue and visceral sarcomas: ESMO-EURACAN-GENTURIS Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up(☆). Ann Oncol. 2021;32(11):1348-65. Epub 20210722. doi: 10.1016/j.annonc.2021.07.006. PubMed PMID: 34303806.

8. Iwasaki H, Nabeshima K, Nishio J, Jimi S, Aoki M, Koga K, et al. Pathology of soft-tissue tumors: daily diagnosis, molecular cytogenetics and experimental approach. Pathol Int. 2009;59(8):501-21. doi: 10.1111/j.1440-1827.2009.02401.x. PubMed PMID: 19627534.

9. Anderson WJ, Jo VY. Diagnostic Immunohistochemistry of Soft Tissue and Bone Tumors: An Update on Biomarkers That Correlate with Molecular Alterations. Diagnostics (Basel). 2021;11(4). Epub 20210412. doi: 10.3390/diagnostics11040690. PubMed PMID: 33921435; PubMed Central PMCID: PMCPMC8069362.

10. Del Savio E, Maestro R. Beyond SMARCB1 Loss: Recent Insights into the Pathobiology of Epithelioid Sarcoma. Cells. 2022;11(17). Epub 20220824. doi: 10.3390/cells11172626. PubMed PMID: 36078034; PubMed Central PMCID: PMCPMC9454995.

11. Sugita S, Hasegawa T. Practical use and utility of fluorescence in situ hybridization in the pathological diagnosis of soft tissue and bone tumors. J Orthop Sci. 2017;22(4):601-12. Epub 20170306. doi: 10.1016/j.jos.2017.02.004. PubMed PMID: 28274512.

12. Ratan ZA, Zaman SB, Mehta V, Haidere MF, Runa NJ, Akter N. Application of Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Technique for the Detection of Genetic Aberration in Medical Science. Cureus. 2017;9(6):e1325. Epub 20170609. doi: 10.7759/cureus.1325. PubMed PMID: 28690958; PubMed Central PMCID: PMCPMC5501716.

13. O'Connor SJM, Turner KR, Barrans SL. Practical Application of Fluorescent In Situ Hybridization Techniques in Clinical Diagnostic Laboratories. In: Nielsen BS, Jones J, editors. In Situ Hybridization Protocols. New York, NY: Springer US; 2020. p. 35-70.

14. Ware PL, Snow AN, Gvalani M, Pettenati MJ, Qasem SA. MDM2 copy numbers in well-differentiated and dedifferentiated liposarcoma: characterizing progression to high-grade tumors. Am J Clin Pathol. 2014;141(3):334-41. doi: 10.1309/ajcplyu89xhsnhqo. PubMed PMID: 24515760.

15. Weaver J, Downs-Kelly E, Goldblum JR, Turner S, Kulkarni S, Tubbs RR, et al. Fluorescence in situ hybridization for MDM2 gene amplification as a diagnostic tool in lipomatous neoplasms. Mod Pathol. 2008;21(8):943-9. Epub 20080523. doi: 10.1038/modpathol.2008.84. PubMed PMID: 18500263.

16. Kao YC, Sung YS, Zhang L, Huang SC, Argani P, Chung CT, et al. Recurrent BCOR Internal Tandem Duplication and YWHAE-NUTM2B Fusions in Soft Tissue Undifferentiated Round Cell Sarcoma of Infancy: Overlapping Genetic Features With Clear Cell Sarcoma of Kidney. Am J Surg Pathol. 2016;40(8):1009-20. doi: 10.1097/pas.0000000000000629. PubMed PMID: 26945340; PubMed Central PMCID: PMCPMC4942366.

17. Rodríguez-Martín C, Alonso J. Molecular Approaches to Diagnosis in Ewing Sarcoma: RT-PCR. Methods Mol Biol. 2021;2226:85-103. doi: 10.1007/978-1-0716-1020-6_7. PubMed PMID: 33326095.

18. Dymond JS. Explanatory chapter: quantitative PCR. Methods Enzymol. 2013;529:279-89. doi: 10.1016/b978-0-12-418687-3.00023-9. PubMed PMID: 24011054.

19. Ma L, Chung WK. Quantitative analysis of copy number variants based on real-time LightCycler PCR. Curr Protoc Hum Genet. 2014;80:7.21.1-7.8. Epub 20140121. doi: 10.1002/0471142905.hg0721s80. PubMed PMID: 24510682; PubMed Central PMCID: PMCPMC3949243.

20. Wang XQ, Goytain A, Dickson BC, Nielsen TO. Advances in sarcoma molecular diagnostics. Genes Chromosomes Cancer. 2022;61(6):332-45. Epub 2022/01/23. doi: 10.1002/gcc.23025. PubMed PMID: 35064596.

21. Goytain A, Ng T. NanoString nCounter Technology: High-Throughput RNA Validation. Methods Mol Biol. 2020;2079:125-39. Epub 2019/11/16. doi: 10.1007/978-1-4939-9904-0_10. PubMed PMID: 31728967.

22. Chang KTE, Goytain A, Tucker T, Karsan A, Lee CH, Nielsen TO, et al. Development and Evaluation of a Pan-Sarcoma Fusion Gene Detection Assay Using the NanoString nCounter Platform. J Mol Diagn. 2018;20(1):63-77. Epub 2017/11/07. doi: S1525-1578(17)30314-8 [pii]10.1016/j.jmoldx.2017.09.007. PubMed PMID: 29104083.

23. Haley L, Parimi V, Jiang L, Pallavajjala A, Hardy M, Yonescu R, et al. Diagnostic Utility of Gene Fusion Panel to Detect Gene Fusions in Fresh and Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded Cancer Specimens. J Mol Diagn. 2021;23(10):1343-58. Epub 2021/08/07. doi: 10.1016/j.jmoldx.2021.07.015. PubMed PMID: 34358677.

24. Song W, Platteel I, Suurmeijer AJH, van Kempen LC. Diagnostic yield of NanoString nCounter FusionPlex profiling in soft tissue tumors. Genes Chromosomes Cancer. 2020;59(5):318-24. Epub 2020/01/23. doi: 10.1002/gcc.22834. PubMed PMID: 31965673; PubMed Central PMCID: PMCPMC7079105.

25. Sheth J, Arnoldo A, Zhong Y, Marrano P, Pereira C, Ryall S, et al. Sarcoma Subgrouping by Detection of Fusion Transcripts Using NanoString nCounter Technology. Pediatr Dev Pathol. 2019;22(3):205-13. Epub 2018/08/10. doi: 10.1177/1093526618790747. PubMed PMID: 30089422.

26. Salguero-Aranda C, Perez M, Vargas-Padilla MV, Beltran-Povea A, Delgado-Bellido D, Marcilla D, et al. High-Throughput Hybridization Assay as First-Line Diagnostic Test for Sarcomas: Clinical Assessment in a Tertiary Referral Center. Arch Pathol Lab Med. 2024. Epub 2024/10/10. doi: 10.5858/arpa.2024-0202-OA. PubMed PMID: 39384185.

27. Lira ME, Choi YL, Lim SM, Deng S, Huang D, Ozeck M, et al. A single-tube multiplexed assay for detecting ALK, ROS1, and *RET* fusions in lung cancer. J Mol Diagn. 2014;16(2):229-43. Epub 2014/01/15. doi: 10.1016/j.jmoldx.2013.11.007. PubMed PMID: 24418728.

28. Goytain A, Chang KTE, Goh JY, Nielsen TO, Ng TL. Diagnosis of Fusion-Associated Sarcomas by Exon Expression Imbalance and Gene Expression. J Mol Diagn. 2023;25(2):121-31. Epub 2022/12/13. doi: 10.1016/j.jmoldx.2022.11.004. PubMed PMID: 36503147.

29. Wang XQ, Wang XQ, Hsu A, Goytain A, Ng TLT, Nielsen TO. A Rapid and Cost-Effective Gene Expression Assay for the Diagnosis of Well-Differentiated and Dedifferentiated Liposarcomas. J Mol Diagn. 2021;23(3):274-84. Epub 2020/12/22. doi: 10.1016/j.jmoldx.2020.11.011. PubMed PMID: 33346147.

30. Folpe AL. 'I Can't Keep Up!': an update on advances in soft tissue pathology occurring after the publication of the 2020 World Health Organization classification of soft tissue and bone tumours. Histopathology. 2022;80(1):54-75. Epub 2021/12/28. doi: 10.1111/his.14460. PubMed PMID: 34958510.

31. Macagno N, Pissaloux D, de la Fouchardiere A, Karanian M, Lantuejoul S, Galateau Salle F, et al. Wholistic approach: Transcriptomic analysis and beyond using archival material for molecular diagnosis. Genes Chromosomes Cancer. 2022;61(6):382-93. Epub 2022/01/27. doi: 10.1002/gcc.23026. PubMed PMID: 35080790.

32. Mertens F, Tayebwa J. Evolving techniques for gene fusion detection in soft tissue tumours. Histopathology. 2014;64(1):151-62. Epub 2013/12/11. doi: 10.1111/his.12272. PubMed PMID: 24320890.

33. Dickson BC, Swanson D. Targeted RNA sequencing: A routine ancillary technique in the diagnosis of bone and soft tissue neoplasms. Genes Chromosomes Cancer. 2019;58(2):75-87. Epub 2018/10/24. doi: 10.1002/gcc.22690. PubMed PMID: 30350361.

34. Heyer EE, Deveson IW, Wooi D, Selinger CI, Lyons RJ, Hayes VM, et al. Diagnosis of fusion genes using targeted RNA sequencing. Nat Commun. 2019;10(1):1388. Epub 20190327. doi: 10.1038/s41467-019-09374-9. PubMed PMID: 30918253; PubMed Central PMCID: PMCPMC6437215.

35. Baumhoer D, Hench J, Amary F. Recent advances in molecular profiling of bone and soft tissue tumors. Skeletal Radiol. 2024;53(9):1925-36. Epub 2024/01/17. doi: 10.1007/s00256-024-04584-9. PubMed PMID: 38231260; PubMed Central PMCID: PMCPMC11303483.

36. Heyer EE, Blackburn J. Sequencing Strategies for Fusion Gene Detection. Bioessays. 2020;42(7):e2000016. Epub 20200419. doi: 10.1002/bies.202000016. PubMed PMID: 32307742.

37. Frohman MA, Dush MK, Martin GR. Rapid production of full-length cDNAs from rare transcripts: amplification using a single gene-specific oligonucleotide primer. Proc Natl Acad Sci U S A. 1988;85(23):8998-9002. doi: 10.1073/pnas.85.23.8998. PubMed PMID: 2461560; PubMed Central PMCID: PMCPMC282649.

38. Gutiérrez-Jimeno M, Alba-Pavón P, Astigarraga I, Imízcoz T, Panizo-Morgado E, García-Obregón S, et al. Clinical Value of NGS Genomic Studies for Clinical Management of Pediatric and Young Adult Bone Sarcomas. Cancers (Basel). 2021;13(21). Epub 20211029. doi: 10.3390/cancers13215436. PubMed PMID: 34771600; PubMed Central PMCID: PMCPMC8582364.

39. Diaz-Martin J, editor Precision Diagnostic of Bone and Soft Tissue Tumors by Anchored Multiplex PCR-Based Targeted Next-Generation Sequencing: Pathognomonic Gene Fusions. SEAP-IAP; 2019; Granada, Spain.

40. Diaz-Martin J, Biscuola M, Aguado E, Delgado M, Blaco-Lobo A, Marcilla D, et al. Experience in differential diagnosis of Ewing sarcoma and Ewing-like sarcoma by targeted RNA-seq. Virchows Archiv. 2018;Suppl 1(473):S25.

41. Salguero-Aranda C, Diaz-Martin J. Molecular Approaches to Diagnosis in Ewing Sarcoma: Targeted RNA Sequencing. Methods Mol Biol. 2021;2226:105-16. Epub 2020/12/17. doi: 10.1007/978-1-0716-1020-6_8. PubMed PMID: 33326096.

42. Diaz-Martin J, Aguado E, Biscuola M, Delgado M, Hernández-Barrera M, Marcilla D, et al. Detection of NAB2-STAT6 gene fusions in solitary fibrous tumour by targeted RNA-seq. Virchows Archiv. 2018;473:S4-S5. PubMed PMID: WOS:000443414101014.

43. Salguero-Aranda C, Amaral AT, Olmedo-Pelayo J, Diaz-Martin J, Alava E. Breakthrough Technologies Reshape the Ewing Sarcoma Molecular Landscape. Cells. 2020;9(4). Epub

2020/04/01. doi: 10.3390/cells9040804. PubMed PMID: 32225029; PubMed Central PMCID: PMCPMC7226764.

44. Salguero-Aranda C, Di Blasi E, Galan L, Zaldumbide L, Civantos G, Marcilla D, et al. Identification of Novel/Rare EWSR1 Fusion Partners in Undifferentiated Mesenchymal Neoplasms. Int J Mol Sci. 2024;25(3). Epub 2024/02/10. doi: 10.3390/ijms25031735. PubMed PMID: 38339014; PubMed Central PMCID: PMCPMC10855420.

45. Chebib I, Taylor MS, Nardi V, Rivera MN, Lennerz JK, Cote GM, et al. Clinical Utility of Anchored Multiplex Solid Fusion Assay for Diagnosis of Bone and Soft Tissue Tumors. Am J Surg Pathol. 2021;45(8):1127-37. doi: 10.1097/pas.0000000000001745. PubMed PMID: 34115673.

46. Kaluziak ST, Codd EM, Purohit R, Melli B, Kalyan P, Fordham JA, et al. Discovery of Gene Fusions in Driver-Negative Cancer Samples From the National Cancer Institute-Molecular Analysis for Therapy Choice Screening Cohort. JCO Precis Oncol. 2024;8:e2400493. Epub 20241205. doi: 10.1200/po-24-00493. PubMed PMID: 39637335; PubMed Central PMCID: PMCPMC11634183.

47. Kirchner M, Neumann O, Volckmar AL, Stögbauer F, Allgäuer M, Kazdal D, et al. RNA-Based Detection of Gene Fusions in Formalin-Fixed and Paraffin-Embedded Solid Cancer Samples. Cancers (Basel). 2019;11(9). Epub 20190905. doi: 10.3390/cancers11091309. PubMed PMID: 31491926; PubMed Central PMCID: PMCPMC6769558.

48. Lam SW, Cleton-Jansen AM, Cleven AHG, Ruano D, van Wezel T, Szuhai K, et al. Molecular Analysis of Gene Fusions in Bone and Soft Tissue Tumors by Anchored Multiplex PCR-Based Targeted Next-Generation Sequencing. J Mol Diagn. 2018;20(5):653-63. Epub 2018/08/25. doi: S1525-1578(18)30058-8 [pii]10.1016/j.jmoldx.2018.05.007. PubMed PMID: 30139549.

49. Mantilla JG, Ricciotti RW, Chen E, Hoch BL, Liu YJ. Detecting disease-defining gene fusions in unclassified round cell sarcomas using anchored multiplex PCR/targeted RNA next-generation sequencing-Molecular and clinicopathological characterization of 16 cases. Genes Chromosomes Cancer. 2019;58(10):713-22. Epub 20190507. doi: 10.1002/gcc.22763. PubMed PMID: 31033080.

50. Pfarr N, Kirchner M, Lehmann U, Leichsenring J, Merkelbach-Bruse S, Glade J, et al. Testing NTRK testing: Wet-lab and in silico comparison of RNA-based targeted sequencing assays. Genes Chromosomes Cancer. 2020;59(3):178-88. Epub 20191118. doi: 10.1002/gcc.22819. PubMed PMID: 31652375.

51. Zhu G, Benayed R, Ho C, Mullaney K, Sukhadia P, Rios K, et al. Diagnosis of known sarcoma fusions and novel fusion partners by targeted RNA sequencing with identification of a recurrent ACTB-FOSB fusion in pseudomyogenic hemangioendothelioma. Modern Pathology. 2019;32(5):609-20. doi: 10.1038/s41379-018-0175-7.

52. Ayasun R, Guven DC, Gullu I. A novel agnostic tumor: NTRKoma. J Oncol Pharm Pract. 2021;27(4):802-3. Epub 20210309. doi: 10.1177/1078155221996049. PubMed PMID: 33719722.

53. Atiq MA, Balan J, Blackburn PR, Gross JM, Voss JS, Jin L, et al. SARCP, a Clinical Next-Generation Sequencing Assay for the Detection of Gene Fusions in Sarcomas: A Description of the First 652 Cases. J Mol Diagn. 2025;27(1):74-95. Epub 20241107. doi: 10.1016/j.jmoldx.2024.10.004. PubMed PMID: 39521244.

54. Sun L, McNulty SN, Evenson MJ, Zhu X, Robinson JA, Mann PR, et al. Clinical Implications of a Targeted RNA-Sequencing Panel in the Detection of Gene Fusions in Solid Tumors. J Mol Diagn. 2021;23(12):1749-60. Epub 20210922. doi: 10.1016/j.jmoldx.2021.08.009. PubMed PMID: 34562614.

55. Xu B, Chen JF, Sarungbam J, Tickoo S, Dickson BC, Reuter VE, et al. NUTM1-fusion positive malignant neoplasms of the genitourinary tract: A report of six cases highlighting involvement

of unusual anatomic locations and histologic heterogeneity. Genes Chromosomes Cancer. 2022;61(9):542-50. Epub 20220427. doi: 10.1002/gcc.23046. PubMed PMID: 35430756; PubMed Central PMCID: PMCPMC9271589.

56. Kawamura-Saito M, Yamazaki Y, Kaneko K, Kawaguchi N, Kanda H, Mukai H, et al. Fusion between CIC and DUX4 up-regulates PEA3 family genes in Ewing-like sarcomas with t(4;19)(q35;q13) translocation. Hum Mol Genet. 2006;15(13):2125-37. Epub 20060522. doi: 10.1093/hmg/ddl136. PubMed PMID: 16717057.

57. Agaram NP, Sung YS, Zhang L, Chen CL, Chen HW, Singer S, et al. Dichotomy of Genetic Abnormalities in PEComas With Therapeutic Implications. Am J Surg Pathol. 2015;39(6):813-25. doi: 10.1097/pas.0000000000000389. PubMed PMID: 25651471; PubMed Central PMCID: PMCPMC4431898.

58. Demetri GD, Antonescu CR, Bjerkehagen B, Bovée J, Boye K, Chacón M, et al. Diagnosis and management of tropomyosin receptor kinase (TRK) fusion sarcomas: expert recommendations from the World Sarcoma Network. Ann Oncol. 2020;31(11):1506-17. Epub 20200903. doi: 10.1016/j.annonc.2020.08.2232. PubMed PMID: 32891793; PubMed Central PMCID: PMCPMC7985805.

59. Arriola E, Bernabé R, Campelo RG, Biscuola M, Enguita AB, López-Ríos F, et al. Cost-Effectiveness of Next-Generation Sequencing Versus Single-Gene Testing for the Molecular Diagnosis of Patients With Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer From the Perspective of Spanish Reference Centers. JCO Precis Oncol. 2023;7:e2200546. doi: 10.1200/po.22.00546. PubMed PMID: 36862967; PubMed Central PMCID: PMCPMC10309530.

60. de Álava E. Current challenges and practical aspects of molecular pathology for bone and soft tissue tumors. Virchows Arch. 2024;484(2):353-67. Epub 20240116. doi: 10.1007/s00428-024-03736-5. PubMed PMID: 38228904; PubMed Central PMCID: PMCPMC10948576.

# Apéndice: Tecnologías alternativas de segunda línea

**Carmen Salguero Aranda[1], Juan Díaz Martín[1], Marta Sese[2], Enrique de Álava[1,3], Empar Mayordomo Aranda[4] y Cleofé Romagosa[2,5]**

1. *Hospital Universitario Virgen del Rocio. Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS), Sevilla*
2. *Hospital Universitario Vall d'Hebron. Institut de Recerca Vall d'Hebron (VHIR), Barcelona*
3. *Universidad de Sevilla*
4. *Hospital La Fe. Valencia*
5. *Universidad Autónoma de Barcelona*

Existe un amplio abanico de técnicas moleculares, más avanzadas y con más sensibilidad analítica que los paneles RNA-seq, con utilidad diagnóstica en sarcomas. Son generalmente ensayos no dirigidos más costosos y complejos, y que por tanto podrían contemplarse como opciones de segunda línea, a las que recurrir en casos con diagnóstico diferencial complicado en los que no haya sido posible identificar alteraciones diagnósticas con otras técnicas.

## SECUENCIACIÓN COMPLETA DEL GENOMA

La secuenciación completa del genoma (WGS, *Whole Genome Sequencing*) permite analizar toda la secuencia de ADN de una muestra en un solo experimento. Este enfoque integral no solo facilita la detección de cualquier GF, sino que también define con precisión la ubicación genómica de los eventos de fusión, en contraste con las estrategias basadas en la secuenciación del ARN. Estas últimas, infieren las ubicaciones de las fusiones debido a que la mayoría de las uniones entre GF ocurren en intrones o regiones intergénicas. El principal beneficio de la WGS radica en su capacidad para identificar reordenamientos de elementos reguladores no transcritos que alteran los niveles de expresión génica sin modificar las secuencias exónicas, eventos que son difíciles de detectar mediante enfoques basados en RNA. Sin embargo, la WGS requiere una profundidad de secuenciación considerable, que puede resultar prohibitiva en términos de costos, tanto en entornos de investigación como clínicos, sumado a la complejidad del análisis informático requerido. Adicionalmente, aunque la WGS identifica con precisión la posición de los eventos de reordenamiento, estos hallazgos no garantizan que el RNA o la proteína del locus reordenado se expresen. Por lo tanto, existe la posibilidad de que una fusión identificada mediante WGS no desempeñe un papel relevante en el desarrollo o progresión de la enfermedad.

## TRANSCRIPTOMA (RNA-SEQ TOTAL)

Las estrategias basadas en la secuenciación del ARN total (*RNA sequencing o RNA-seq*) permiten explorar el transcriptoma de una muestra. Al igual que la WGS, permite una detección global, no dirigida, identificando tanto GF conocidos como nuevos. Un aspecto destacado del RNA-seq es su mayor sensibilidad en comparación con la WGS a profundidades de secuenciación equivalentes. Esto se debe a la menor complejidad del transcriptoma, ya que solo el 1-2 % del genoma se expresa. Pese a

sus ventajas, la identificación de GF mediante RNA-seq presenta algunas limitaciones. Los transcritos con niveles bajos de expresión, o el uso de muestras con baja celularidad o bajo porcentaje tumoral, pueden generar falsos negativos. Estas limitaciones podrían salvarse aumentando la profundidad de secuenciación, aunque esto conlleva un incremento en los costos y, a menudo, en la cantidad de falsos positivos en el análisis bioinformático. Otra debilidad del RNA-seq en comparación con la secuenciación del ADN es la mayor sensibilidad del ARN a la degradación.

Los análisis transcriptómicos están ganando mucha aceptación en los últimos años, y con el tiempo podrían llegar a reemplazar a los paneles de RNA-seq, sobre todo por la progresiva reducción de los costes de reactivos y de los recursos de computación [1-3]. En Europa, la institución Centre Léon Bérard (CLB, en Lyon, Francia) ha analizado el transcriptoma de más de 5.000 muestras FFPE de sarcomas, tanto para el diagnóstico molecular de entidades raras y complejas, como para refinar la clasificación de subtipos tumorales e incluso definir nuevas entidades. La aproximación metodológica para el análisis del transcriptoma que realiza este centro es la secuenciación del exoma completo de ARN (whole exome RNA sequencing (WERS)) con librerías TruSeq RNA Exome (Illumina, San Diego, USA), que seleccionan las secuencias codificantes del ARN con sondas de captura. Esto hace que WERS sea más adecuada para muestras degradadas que otras técnicas transcriptómicas [2]. Dado que los análisis transcriptómicos no están limitados a un conjunto de genes como los paneles de RNA-seq, es posible identificar nuevos GF, aunque los reordenamientos que implican secuencias reguladoras no codificantes (promoter swapping) son difíciles de detectar. Tampoco es sensible a alteraciones que trunquen la secuencia génica y produzcan disminución de la expresión de genes supresores de tumores, que sí serían detectables con técnicas basadas en ADN. Generalmente, para identificar GF a partir de datos de transcriptoma se utilizan varias herramientas bioinformáticas diferentes, y se priorizan los GF detectados por más de una de ellas. Además, con los datos transcriptómicos es posible la clasificación de entidades en función de su perfil de expresión, pero es importante que el patólogo seleccione el área más representativa del tumor, libre de tejido normal o infiltrado inflamatorio. En CLB realizan análisis de agrupamientos jerárquicos no supervisados o de reducción dimensional t-SNE (t-distributed Stochastic Neighbor Embedding) que permiten determinar la relación entre distintos tumores atendiendo a las correlaciones entre sus perfiles de transcripción, lo que resulta muy útil para entidades sin un marcador diagnóstico claro. Los datos transcriptómicos se añaden a una base de datos curada que permite mejorar continuamente el diagnóstico mediante la comparación con casos similares. Para ello, es crítico que los casos estén correctamente anotados en lo que respecta a los datos clínico-patológicos y radiológicos. También es posible evaluar a partir del transcriptoma la expresión de genes característicos de entidades específicas (p.e. genes ETV con expresión elevada en sarcomas CIC::DUX4), e identificar firmas de expresión de procesos biológicos como la transición G2/M que se puede usar como un marcador similar al índice mitótico o el marcaje Ki67, o firmas de infiltrado inflamatorio. Por último, las lecturas generadas por RNA-seq pueden utilizarse también para analizar variantes de nucleótido (SNV/indels) e inferir variaciones en el número de copias (CNV) mediante herramientas bioinformáticas específicas. No obstante, si la identificación del subtipo de sarcomas depende principalmente de SNV/indels y CNV característicos, las técnicas de NGS basadas en ADN podrían ser una opción más adecuada.

Este enfoque integrado en CLB ha permitido el descubrimiento de múltiples subtipos tumorales con GF y perfiles de expresión característicos, como reordenamientos alternativos de PDGFB en dermatofibrosarcoma protuberans; GF en sarcomas de estroma endometrial; sarcomas con el reordenamiento CIC::NUTM1; neoplasia mixoide perivascular con fusión SRF; rabdomiosarcomas bien diferenciados con fusión SRF; sarcoma indiferenciado de células redondas con fusión CRTC1::SS18; tumores pleomórficos superficiales con fusión de PRDM10; tumor de células gigantes con fusión de NCOR2; o el tumor fibrocartilaginoso acral con fusión de THBS1, entre otros [2]. Por tanto, con el transcriptoma es posible identificar la expresión de GF no conocidos o no cubiertos en los paneles de RNA-seq, pero es necesario un mayor número de lecturas por muestra para cubrir la totalidad del transcriptoma (entre 30-50 millones), y por consiguiente equipos de secuenciación con más capacidad (NextSeq, NovaSeq). Sin embargo, con estos equipos, el escalado en número de lecturas no incrementa significativamente el coste de reactivos de secuenciación respecto a los paneles de RNA-seq. Sí

constituye un potencial obstáculo para su adopción el volumen masivo de datos generado, cuyo manejo e interpretación resultan complejos y requiere análisis bioinformáticos avanzados. Además, estas técnicas producen una cantidad considerable de información que excede lo necesario para el diagnóstico clínico. Muchas de las fusiones o mutaciones identificadas no son necesariamente funcionales, patogénicas ni diagnósticas.

## PERFIL DE METILACIÓN DEL ADN

La metilación del DNA es una modificación química en la que se añaden grupos metilo a citosinas en el contexto de los dinucleótidos CpG, presentes en secuencias con función reguladora en el genoma. Esta marca epigenética se asocia generalmente a la represión de la transcripción porque inactiva a dichos elementos reguladores, típicamente secuencias promotoras. Por tanto, constituye un mecanismo de regulación de la expresión génica, que juega un papel crucial para establecer la identidad de los diferentes linajes celulares y su estado de diferenciación. En las células cancerosas, el perfil de metilación a nivel del genoma refleja el tipo celular de origen y también las modificaciones que han adquirido las células durante el proceso oncogénico, de manera que cada tipo de tumor presenta un perfil o firma de metilación característica [4]. El Centro Alemán de Investigación del Cáncer (Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)) desarrolló una herramienta para la clasificación de tumores del sistema nervioso central basada en el perfil de metilación del ADN, que ha demostrado una gran utilidad como ensayo diagnóstico clínico, y que ha permitido refinar la clasificación de estas entidades, así como definir nuevos subtipos [5]. Del mismo modo, el DKFZ desarrolló posteriormente un clasificador similar para sarcomas, utilizando datos de metiloma de 1077 tumores, incluyendo 54 tipos histológicos, generados con los *arrays* de metilación *Infinium Human-Methylation450K* o *EPIC* (Illumina, San Diego, CA, USA)[4]. Para desarrollar el clasificador, entrenaron con estos perfiles un algoritmo *machine learning* del tipo *random forest*, con el que consiguen identificar 62 clases de tumores en base a sus firmas de metilación. La asignación de estas clases se realiza en función de un «*score*» calibrado para el que se establece un umbral ≥ 0,9 para considerar la predicción fiable. Actualmente, la aplicación clínica del ensayo se restringe a casos complejos como test de segunda línea. Si la predicción del clasificador es fiable (*score* ≥0,9) y concordante con el diagnóstico histopatológico, reforzaría la orientación diagnóstica inicial. Si, por el contrario, no es concordante debe realizarse una reevaluación histológica y test moleculares adicionales para confirmar la predicción del clasificador. El valor diagnóstico de las predicciones con *scores* por debajo de 0,9 requiere aún de estudios adicionales [4, 6]. Además de esta predicción en base al perfil de metilación, los datos de los *arrays* se pueden usar para inferir alteraciones CNV, que pueden ser de utilidad para el diagnóstico de histotipos específicos como los liposarcomas desdiferenciados o bien diferenciados (amplificación de MDM2), angiosarcomas inducidos por radioterapia (amplificación de MYC), o el tumor rabdoide (deleción de SMARC1 en cromosoma 22q); y también como marcadores pronóstico en subtipos específicos de sarcoma. Este algoritmo clasificador DKFZ está disponible *online* en www.molecularsarcomapathology.org, donde es posible analizar el metiloma de muestras problema para obtener un informe de clasificación y el nivel de confianza de la predicción.

El clasificador DKFZ para sarcomas se ha evaluado con muestras clínicas por la misma institución y por grupos independientes [4, 6-9]. La validación interna en DKFZ se realizó con 428 muestras clínicas, revelando que el clasificador hacía una predicción fiable en el 75 % de los casos, de las cuales un 1 % eran no concordantes [4]. En el trabajo de validación externa con mayor volumen de muestras (n=820), sólo se obtuvieron predicciones fiables para el 61 % de las muestras ensayadas, de las cuales un 12 % eran no concordantes [7]. Otro trabajo estudió una serie de 122 sarcomas pediátricos, para los que el clasificador asignó un perfil característico de metilación en el 68 % de los casos [8]. En general, en todos los trabajos que han evaluado el clasificador DKFZ se observa que la principal limitación es su baja sensibilidad para las entidades no representadas o poco presentadas en la cohorte utilizada para el desarrollo inicial del algoritmo, que son mayoritariamente aquellas que no obtienen una predicción con buen *score* en los estudios de validación. Otro aspecto importante que se trata en estos trabajos está relacionado con la fase preanalítica de preparación de la muestra. En concreto, con la pureza de la

muestra en células tumorales, y la influencia del tejido normal y el componente inflamatorio en el resultado del ensayo. Como todas las técnicas genómicas que analizan muestras de tejidos completos sin individualizar células (*bulk*), las células no tumorales presentes en la muestra introducen un factor de confusión en el ensayo. Se ha descrito que existe correlación entre una mayor proporción de células tumorales y un mejor *score* del clasificador [8], pero no parece existir relación con la precisión de la predicción [7]. En algunos casos se producen falsos positivos en tumores con alto contenido en infiltrado inflamatorio, que se clasifican erróneamente como tumor miofibroblástico inflamatorio o histiocitosis de células de Langerhans [4, 8, 9], y que quizás podrían evitarse sustrayendo los patrones de metilación típicos de linfocitos [4].

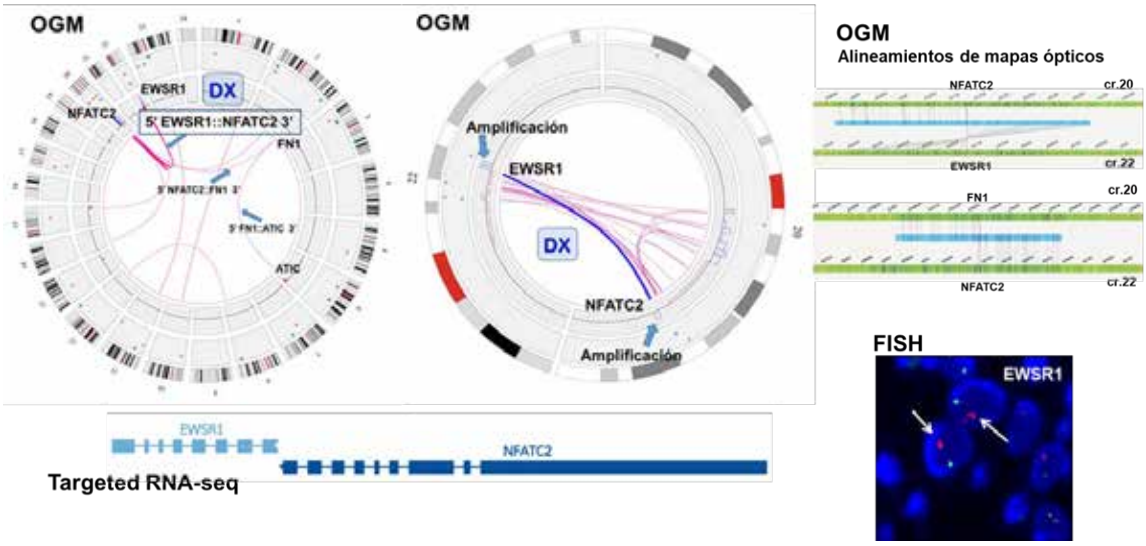
En definitiva, el clasificador DKFZ es una herramienta con gran potencial para asistir el diagnóstico diferencial en sarcomas, pero aún debe mejorarse incluyendo en el algoritmo perfiles de metilación de DNA de entidades no representadas o poco representadas en la versión actual. Es esperable que esto ocurra en corto-medio plazo, gracias al uso cada vez más extendido del algoritmo. Durante los últimos años este clasificador ha ido ganando implantación en muchos centros de referencia para el manejo de sarcomas, sobre todo para casos complejos sin marcador patognomónico (generalmente un GF). En principio, el algoritmo sería muy útil para este tipo de sarcomas, aunque paradójicamente parece funcionar mejor con entidades con GF como el sarcoma de Ewing, sarcoma sinovial, tumor fibroso solitario o sarcomas con reordenamientos CIC y BCOR. [9]. La principal ventaja de la técnica es que es compatible con tejido FFPE. Además, puede resultar de utilidad en muestras especialmente degradadas donde no sea posible hacer RNA-seq total o dirigido, ya que se basa en análisis de ADN, menos susceptible de degradación. El perfil de metilación también permitiría clasificar entidades con GF de baja expresión, no detectables con técnicas de RNA-seq. La indicación de su uso podría proponerse para casos con histología poco informativa, y sin hallazgos de marcadores moleculares definitorios.

## MAPEO ÓPTICO DEL GENOMA

Recientemente se ha desarrollado una nueva tecnología citogenética, el mapeo óptico del genoma (OGM, *Optical Genome Mapping*), con la que es posible visualizar directamente en el ADN cualquier tipo de alteración genómica estructural de forma no dirigida (*genome-wide*) [10, 11]. Este método requiere la preparación de moléculas largas ADN (*ultra-high-molecular-weight* (UHMW) DNA) de hasta 3 Mpb, que deben extraerse de material fresco o congelado que preserve la integridad del mismo, no es posible usar tejido FFPE. Este UHMW DNA se marca enzimáticamente en una secuencia específica (CTTAAG) que se repite en el genoma con una periodicidad de 5 Kpb aproximadamente. Posteriormente, las moléculas de UHMW DNA marcado se cargan en un chip, se «linearizan» y pasan como moléculas individuales a través de nanocanales donde se escanean. Las imágenes captadas de las moléculas, cada una con su patrón de marcaje, se alinean para generar un mapa óptico que se compara con una referencia normal para identificar cambios en dicho patrón. Se trata de un ensayo no dirigido que interroga el genoma completo de la muestra, con mayor resolución que otras técnicas citogenéticas como el cariotipo o los *arrays* de SNPs. De esta manera, es posible identificar todos los tipos de alteraciones estructurales (CNV, aneuploidías, deleciones, duplicaciones, inversiones, inserciones y translocaciones), e incluso la pérdida de heterocigosidad [12]. También puede detectar reordenamientos crípticos y complejos, no detectables con técnicas de secuenciación masiva de lecturas cortas que no resuelven bien estos eventos. Por lo tanto, OGM proporciona en un único ensayo toda la información que darían en conjunto otros test diagnósticos más laboriosos. Esta tecnología ha supuesto una «revolución» en el campo de las hemopatías malignas, donde se ha posicionado en muy poco tiempo como la técnica de elección o ensayo de primera línea, reemplazando los ensayos convencionales de cariotipo, MLPA, paneles FISH, paneles RNA-seq ó los *arrays* de SNPs [13]. De hecho, en España ya existen varios hospitales importantes que han validado recientemente el uso de OGM para cáncer hematológico en su práctica clínica [14, 15]. Sus ventajas sobre otras técnicas también están impulsando su aplicación en el diagnóstico de enfermedad constitucional (línea germinal), incluyendo trastornos del neurodesarrollo (síndrome X frágil, espectro autista, discapacidad intelectual, etc.), infertilidad y otros síndromes genéticos y enfermedades raras, aunque en este caso la implementación

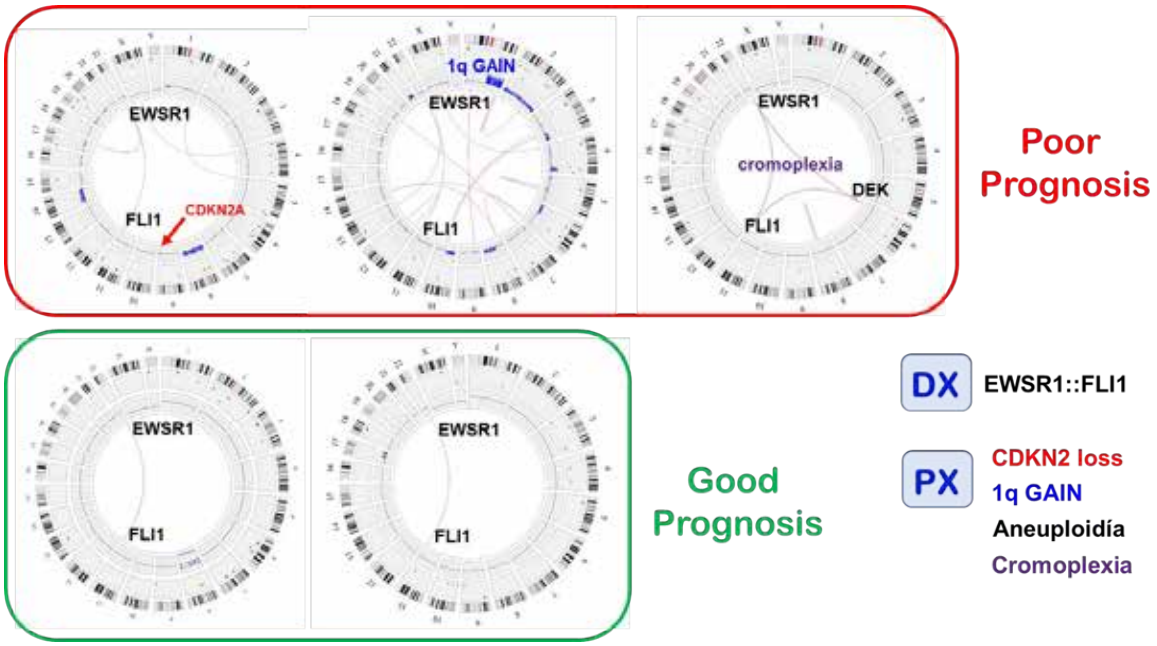
está menos extendida [16]. El uso de OGM en tumor sólido es también incipiente, sobre todo en sarcomas, siendo nuestro grupo pionero en Europa [17, 18] junto con otro grupo en Bélgica para esta aplicación [19]. Muy recientemente, otro trabajo de la universidad Johns Hopkins también ha confirmado la utilidad diagnóstica de OGM y una sensibilidad analítica superior a la de las técnicas convencionales en neoplasias mesenquimales [20]. Nuestro grupo inició hace tres años estudios con muestras de tipos específicos de sarcomas con translocaciones, comprobando la concordancia total de OGM con técnicas ortogonales en la detección de GF (Figura 1).

**Figura 1.** Análisis OGM de un caso de sarcoma indiferenciado de célula pequeña y redonda con reordenamiento EWSR1::NFATC2. El primer «circos plot» (izquierda) representa las alteraciones estructurales genómicas detectadas con OGM en todos los cromosomas. Se destaca con un recuadro la translocación diagnóstica (DX) EWSR1::NFATC2, pero se detectan fusiones génicas adicionales que también podrían ser relevantes (líneas magenta conectando diferentes loci). La translocación diagnóstica se genera en un contexto de cromotripsis, con amplificación de los dos loci que participan en el reordenamiento, como se observa en el siguiente «circos plot», que únicamente representa los cromosomas 20 y 22. A la derecha se muestran alineamientos en diferentes regiones de los mapas ópticos de la muestra (en azul) con la referencia normal (en verde). También se muestra (parte inferior) el transcrito de fusión detectado mediante RNA-seq dirigido, y el reordenamiento y amplificación del locus EWSR1 detectado mediante FISH con una sonda break-apart (la amplificación de la región 5' de EWSR1 se indica con flechas blancas).




Dado que el ensayo OGM interroga todo el genoma, es posible identificar alteraciones estructurales adicionales a los GF patognomónicos que también pueden tener relevancia clínica, como hemos comprobado en el caso del sarcoma de Ewing [21]. En este estudio demostramos que OGM detecta en un único ensayo aneuploidías cromosómicas, CNV y alteraciones focales con valor pronóstico, y reordenamientos en cromoplexia también asociado a peor comportamiento clínico en sarcoma de Ewing (Figura A2). Además, al igual que otras técnicas basadas en ADN como Hi-C (ver apartado 5), OGM puede resultar muy útil para la detección de reordenamientos de elementos reguladores, o para detección de GF con baja expresión.

**Figura 2.** Análisis OGM en casos de sarcoma de Ewing. En cada «circos plot» se representan las alteraciones estructurales genómicas detectadas en especímenes de diferentes pacientes. En todos los casos se identifica la translocación patognomónica que genera el GF EWSR1::FLI1 (marcador diagnóstico, DX), representada mediante una línea que conecta los dos loci en los cromosomas 22 y 11. Se indican también diferentes eventos que correlacionan con peor comportamiento clínico (marcadores pronóstico, PX): microdeleción en el locus CDKN2A, ganancia del brazo largo del cromosoma 1 (1q GAIN), y reordenamiento en cromoplexia.




La tecnología OGM tiene, por tanto, un enorme potencial de aplicación clínica como ensayo molecular en tumores de origen mesenquimal, tanto para el diagnóstico de precisión como para la estratificación del riesgo en pacientes con sarcoma, pero tiene la limitación importante de que es necesario contar con material fresco/congelado para obtener UHMW DNA. El ensayo también requiere un equipo específico que supone una inversión inicial considerable, aunque el coste de los reactivos es sólo un poco superior al de un panel RNA-seq.

## GENÓMICA 3D

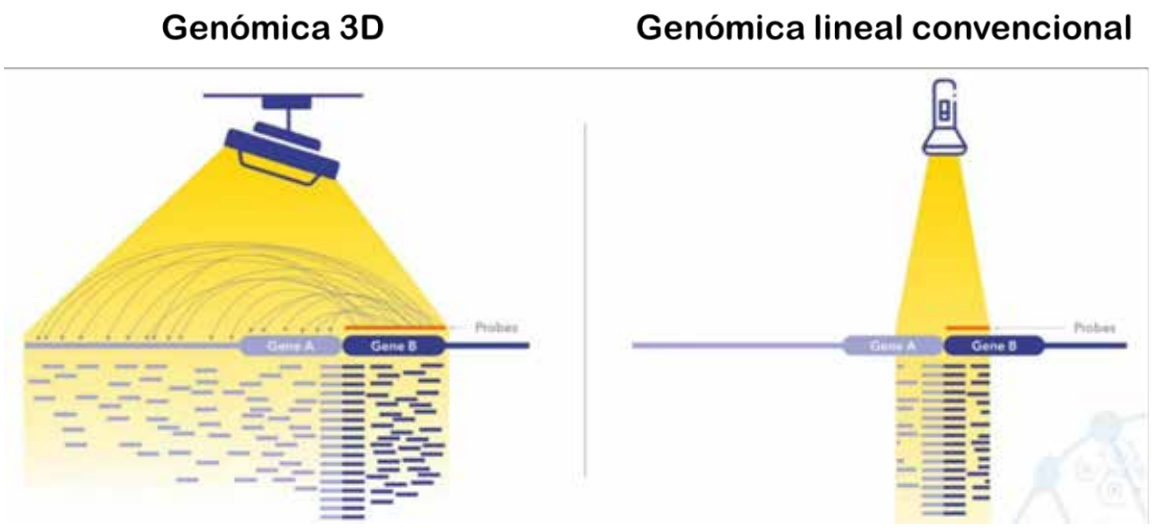
En los últimos años está emergiendo con fuerza el uso de técnicas que analizan la disposición espacial del ADN (genómica 3D) para el estudio de alteraciones estructurales en el genoma. Estas técnicas se basan en la captura de las interacciones físicas entre regiones del ADN que están dispuestas en proximidad espacial dentro del núcleo celular, aunque puedan estar distantes en la secuencia lineal del genoma. Los análisis de genómica 3D preservan la información topológica o de conformación espacial del ADN, de manera que es posible, por ejemplo, determinar cómo interaccionan entre sí a distancia elementos reguladores como *enhancers* y promotores gracias al plegamiento espacial del material genético. Estas tecnologías se originaron con el fin de estudiar cómo se organiza la cromatina y cómo afecta su estructura espacial a los procesos de regulación de la expresión génica, la replicación del ADN, o la estabilidad del genoma [22]. Las técnicas genómicas 3D han sido fundamentales para entender las implicaciones funcionales de la organización de la cromatina en diferentes niveles estructurales, como los territorios cromosómicos, los compartimentos cromosómicos A/B activos y represivos respectivamente, y los dominios asociados topológicamente (*TAD, Topologically Associated Domain*). Estos últimos se definen como regiones genómicas en la que se producen interacciones con más frecuencia entre secuencias de ADN localizadas dentro de dicho dominio, que con secuencias localizadas en TADs adyacentes, y constituyen la unidad funcional de la organización espacial del

genoma, ya que la acción de las secuencias reguladores está limitada a los genes confinados en el dominio. Cada TAD a su vez agrupa varios plegamientos de cromatina en loop, que es el mecanismo básico para la regulación génica a distancia mediante interacción entre elementos reguladores como enhancers y promotores.

La mayoría de estas técnicas de genómica 3D se basan en ensayos de tipo 3C (*Chromatine Conformation Capture*), que cuantifican la proximidad entre loci mediante ligación de secuencias próximas (*proximity ligation*). P.e., en el caso del método Hi-C (*High throughput Chromatine Conformation Capture*), y otras técnicas relacionadas que mapean las interacciones de la cromatina a nivel de todo el genoma, el ensayo comienza estabilizando las interacciones mediante fijación con formaldehido (*crosslinking*) que crea enlaces entre histonas y otras proteínas asociadas al ADN, de manera que se «congela» la estructura 3D del genoma en un momento concreto. Posteriormente, el ADN se trata con enzimas de restricción para generar cortes que se marcan con biotina, en una reacción de rellenado del corte que genera extremos romos. Los extremos romos se ligan (ligación in situ) para producir productos quiméricos entre segmentos del genoma próximos espacialmente, no necesariamente adyacentes en la secuencia lineal, que se purifican con estreptavidina para generar una librería enriquecida en estos segmentos. La secuenciación de estas librerías se realiza con sistemas NGS convencionales, y se generan lecturas que describen y cuantifican los contactos entre regiones del genoma. Normalmente, las interacciones más frecuentes ocurren entre regiones del ADN próximas entre sí, mientras que las regiones alejadas en la secuencia lineal en el genoma presentan menos contactos. Sin embargo, los reordenamientos del material genético como las translocaciones, inversiones, etc., provocan cambios en la posición relativa de regiones del ADN, detectables por tanto con estas tecnologías. Además, los reordenamientos también pueden afectar a la arquitectura de los TADs, dando lugar a su desorganización o a la aparición de nuevos dominios (neo-TADs), que pueden tener impacto en la expresión de oncogenes o genes supresores de tumores [23-25].

La utilidad de las técnicas genómicas 3D como herramientas citogenéticas en cáncer, incluyendo tumores de hueso y partes blandas, se ha explorado en varios trabajos [23, 26-29] que han puesto de manifiesto algunas ventajas interesantes sobre otros métodos que discutiremos a continuación. En primer lugar, dado que estas técnicas se basan en la fijación con formaldehido (primer paso de crosslinking del ensayo) y la fragmentación del ADN, son muy adecuadas para material FFPE. A este respecto, también hay que recordar que el ARN es más susceptible a la degradación que el ADN, por lo que las técnicas como Hi-C pueden ser muy útiles en muestras muy degradadas (p.e. decalcificadas) sin calidad suficiente para realizar ensayos con RNA-seq dirigido [30]. Además, los paneles de RNA-seq o el RNA-seq total pueden ser poco sensibles para GF con bajos niveles de expresión y tampoco detectan reordenamientos que impliquen regiones intergénicas o promotoras, ya que las sondas de captura o los primers del panel suelen estar diseñados en secuencias exónicas codificantes. Aunque estas alteraciones, que son detectables con Hi-C, no generan proteínas de fusión quiméricas, son muy relevantes porque pueden conducir a la sobreexpresión de oncogenes o disrupción de genes supresores de tumores como consecuencia de reordenamientos en secuencias reguladores de tipo *promoter swap o enhancer hijacking*, que configuran además una nueva arquitectura del TAD [24]. Otra característica importante es que las técnicas como Hi-C generan más lecturas informativas de eventos de reordenamiento que los ensayos NGS de RNA-seq, ya que a las lecturas que cubren el punto de fusión se le suman aquellas que provienen de interacciones por proximidad en el contexto del reordenamiento (Figura 3). Esto permite además que con una profundidad de lectura 5-7x, mucho menor que en WGS, sea suficiente para detectar las alteraciones. Por último, al igual que con OGM, con Hi-C es posible detectar todo el espectro de alteraciones genéticas estructurales, incluyendo alteraciones en número de copias.

**Figura 3.** Cobertura de lecturas NGS de un evento de fusión génica mediante genómica 3D vs genómica convencional (adaptada de Arima Genomics).




Los inconvenientes de estas tecnologías para su uso rutinario son principalmente la necesidad de equipos de secuenciación masiva de gran capacidad, y la aplicación de pipelines informáticos muy adaptados. Existen ya algunas compañías que ofrecen kits para realizar ensayos HiC en muestras clínicas, que también ofrecen una solución completa para el análisis bioinformático (Arima Genomics_Aventa Genomics, Phase Genomics_Cytoterra). El ensayo también puede realizarse de forma dirigida aplicando un panel de captura a las librerías de Hi-C (p.e. Arima Capture-HiC).

## CONCLUSIONES

En resumen, en los últimos años están emergiendo un buen número de tecnologías alternativas no dirigidas, que analizan el genoma completo, para detectar GF y otros marcadores moleculares en sarcomas, que pueden ser de utilidad en casos complejos, y que previsiblemente se irán adoptando gradualmente en la rutina clínica en la medida en que vayan madurando. Su aplicación creciente, generalmente como ensayos de segunda línea en casos complejos, ya está permitiendo refinar la clasificación y el descubrimiento de nuevas entidades que se incorporan al amplio catálogo de neoplasias mesenquimales en continua expansión [31]. Además, la caracterización genómica no dirigida también puede revelar marcadores pronóstico o predictivos de respuesta, fundamentales para mejorar el manejo clínico de los pacientes. Estos avances son decisivos en el paradigma actual de la medicina de precisión, tanto en el ámbito puramente asistencial, como para profundizar en el conocimiento de estas entidades e identificar vulnerabilidades que permitan diseñar nuevos tratamientos dirigidos. Las tecnologías basadas en ADN, como OGM, HiC o el perfil de metilación del ADN tienen la ventaja de que pueden funcionar con muestras con ARN muy degradado no analizable con RNA-seq (en todas sus variantes), o con bajos niveles de expresión del GF. Además, tanto OGM como HiC pueden detectar reordenamientos de tipo promoter swapping y enhancer hijaking que son difíciles de detectar o indetectables con técnicas de RNA-seq. OGM tiene la limitación importante de que sólo se puede realizar con material fresco o congelado. Por otra parte, las técnicas que clasifican los tumores en base a firmas/perfiles, transcriptómicos o de metilación del ADN, tienen en principio un gran potencial para asistir el diagnóstico diferencial de entidades sin alteraciones moleculares definitorias, como los GF. Es crítico que estos perfiles se obtengan de muestras en las que se excluya el tejido normal y el infiltrado inflamatorio que puedan distorsionar la firma característica del tumor. Estas

herramientas irán ganando en precisión en la medida que se amplíen las bases de datos con más casos caracterizados, en los que se haya integrado correctamente la información molecular con la información clínico-patológica.

**Bibliografía**


1. Baumhoer D, Hench J, Amary F. Recent advances in molecular profiling of bone and soft tissue tumors. Skeletal Radiol. 2024;53(9):1925-36. Epub 2024/01/17. doi: 10.1007/s00256-024-04584-9. PubMed PMID: 38231260; PubMed Central PMCID: PMCPMC11303483.

2. Macagno N, Pissaloux D, de la Fouchardiere A, Karanian M, Lantuejoul S, Galateau Salle F, et al. Wholistic approach: Transcriptomic analysis and beyond using archival material for molecular diagnosis. Genes Chromosomes Cancer. 2022;61(6):382-93. Epub 2022/01/27. doi: 10.1002/gcc.23026. PubMed PMID: 35080790.

3. Ichikawa D, Yamashita K, Okuno Y, Muramatsu H, Murakami N, Suzuki K, et al. Integrated diagnosis based on transcriptome analysis in suspected pediatric sarcomas. NPJ Genom Med. 2021;6(1):49. Epub 2021/06/17. doi: 10.1038/s41525-021-00210-y. PubMed PMID: 34131151; PubMed Central PMCID: PMCPMC8206218.

4. Koelsche C, Schrimpf D, Stichel D, Sill M, Sahm F, Reuss DE, et al. Sarcoma classification by DNA methylation profiling. Nat Commun. 2021;12(1):498. Epub 2021/01/23. doi: 10.1038/s41467-020-20603-4. PubMed PMID: 33479225; PubMed Central PMCID: PMCPMC7819999 brain has been applied for by the Deutsches Krebsforschungszentrum Stiftung des offentlichen Rechts and Ruprecht-Karls-Universitat Heidelberg (EP 3067432 A1) with S.M.P., A.v.D., D.T.W.J., D.C., V.Ho., M.Si., M.B.H. and M.Sc. as inventors. The other authors declare no competing interests.

5. Capper D, Jones DTW, Sill M, Hovestadt V, Schrimpf D, Sturm D, et al. DNA methylation-based classification of central nervous system tumours. Nature. 2018;555(7697):469-74. Epub 2018/03/15. doi: 10.1038/nature26000. PubMed PMID: 29539639; PubMed Central PMCID: PMCPMC6093218.

6. Roohani S, Ehret F, Perez E, Capper D, Jarosch A, Florcken A, et al. Sarcoma classification by DNA methylation profiling in clinical everyday life: the Charite experience. Clin Epigenetics. 2022;14(1):149. Epub 2022/11/17. doi: 10.1186/s13148-022-01365-w. PubMed PMID: 36380356; PubMed Central PMCID: PMCPMC9667620.

7. Lyskjaer I, De Noon S, Tirabosco R, Rocha AM, Lindsay D, Amary F, et al. DNA methylation-based profiling of bone and soft tissue tumours: a validation study of the 'DKFZ Sarcoma Classifier'. J Pathol Clin Res. 2021;7(4):350-60. Epub 2021/05/06. doi: 10.1002/cjp2.215. PubMed PMID: 33949149; PubMed Central PMCID: PMCPMC8185366.

8. Silva FLT, Euzebio MF, Ruas JS, Franco MT, Cassone AE, Junqueira T, et al. Classification of pediatric soft and bone sarcomas using DNA methylation-based profiling. BMC Cancer. 2024;24(1):1428. Epub 2024/11/21. doi: 10.1186/s12885-024-13159-9. PubMed PMID: 39567898; PubMed Central PMCID: PMCPMC11577672.

9. Miettinen M, Abdullaev Z, Turakulov R, Quezado M, Luina Contreras A, Curcio CA, et al. Assessment of The Utility of The Sarcoma DNA Methylation Classifier In Surgical Pathology. Am J Surg Pathol. 2024;48(1):112-22. Epub 2023/11/03. doi: 10.1097/PAS.0000000000002138. PubMed PMID: 37921028; PubMed Central PMCID: PMCPMC10842611.

10. Mantere T, Neveling K, Pebrel-Richard C, Benoist M, van der Zande G, Kater-Baats E, et al. Optical genome mapping enables constitutional chromosomal aberration detection. Am J Hum Genet.

2021;108(8):1409-22. Epub 2021/07/09. doi: 10.1016/j.ajhg.2021.05.012. PubMed PMID: 34237280; PubMed Central PMCID: PMCPMC8387289.

11. Chan S, Lam E, Saghbini M, Bocklandt S, Hastie A, Cao H, et al. Structural Variation Detection and Analysis Using Bionano Optical Mapping. Methods Mol Biol. 2018;1833:193-203. Epub 2018/07/25. doi: 10.1007/978-1-4939-8666-8_16. PubMed PMID: 30039375.

12. Smith AC, Neveling K, Kanagal-Shamanna R. Optical genome mapping for structural variation analysis in hematologic malignancies. Am J Hematol. 2022;97(7):975-82. Epub 2022/05/14. doi: 10.1002/ajh.26587. PubMed PMID: 35560245.

13. Levy B, Kanagal-Shamanna R, Sahajpal NS, Neveling K, Rack K, Dewaele B, et al. A framework for the clinical implementation of optical genome mapping in hematologic malignancies. Am J Hematol. 2024;99(4):642-61. Epub 2024/01/02. doi: 10.1002/ajh.27175. PubMed PMID: 38164980.

14. Puiggros A, Ramos-Campoy S, Kamaso J, de la Rosa M, Salido M, Melero C, et al. Optical Genome Mapping: A Promising New Tool to Assess Genomic Complexity in Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). Cancers (Basel). 2022;14(14). Epub 2022/07/28. doi: 10.3390/cancers14143376. PubMed PMID: 35884436; PubMed Central PMCID: PMCPMC9317182.

15. Anna Puiggros, Mar Mallo, Marta Salido, Ana Gómez-García, Adela Cisneros, Rocío García-Serra, et al. Pilot Inter-Laboratory Comparison Study of Optical Genome Mapping Analysis for Cytogenomic Characterization of Hematological Malignancies: A Spanish Multicentric Study Blood. 2022;140 4981–3. doi: https://doi.org/10.1182/blood-2022-166293.

16. Iqbal MA, Broeckel U, Levy B, Skinner S, Sahajpal NS, Rodriguez V, et al. Multisite Assessment of Optical Genome Mapping for Analysis of Structural Variants in Constitutional Postnatal Cases. J Mol Diagn. 2023;25(3):175-88. Epub 2023/02/25. doi: 10.1016/j.jmoldx.2022.12.005. PubMed PMID: 36828597; PubMed Central PMCID: PMCPMC10851778.

17. Diaz Martin J. NUEVAS APROXIMACIONES DIAGNÓSTICAS: Optical Genomic Mapping como herramienta para detección de alteraciones genéticas diagnósticas y pronósticas en sarcomas XXI Congreso Nacional SEAP-IAP. 2023.

18. Diaz Martin J, editor Aplicaciones del mapeo óptico del genoma en sarcomas. SESIÓN MAPEO ÓPTICO DEL GENOMA (OGM): ASPECTOS TÉCNICOS Y APLICACIONES EN GENÉTICA HUMANA Comisión de Genética Onco-hematológica de la AEGH; 2024 27 nov 2024.

19. Baelen J, Dewaele B, Debiec-Rychter M, Sciot R, Schoffski P, Hompes D, et al. Optical Genome Mapping for Comprehensive Cytogenetic Analysis of Soft-Tissue and Bone Tumors for Diagnostic Purposes. J Mol Diagn. 2024;26(5):374-86. Epub 2024/02/24. doi: 10.1016/j.jmoldx.2024.02.003. PubMed PMID: 38395407.

20. Ghabrial J, Stinnett V, Ribeiro E, Klausner M, Morsberger L, Long P, et al. Diagnostic and Prognostic/Therapeutic Significance of Comprehensive Analysis of Bone and Soft Tissue Tumors Using Optical Genome Mapping and Next-generation Sequencing. Mod Pathol. 2024:100684. Epub 2024/12/16. doi: 10.1016/j.modpat.2024.100684. PubMed PMID: 39675429.

21. Diaz Martin J. Optical Genome Mapping detects complex rearrangement patterns in Ewing sarcoma that associate with poor clinical outcome. Virchows Archiv European Journal of Pathology. 2024;485, supplement. 36th EPC Congress. Meeting abstracts(supplement. 36th EPC Congress. Meeting abstracts).

22. Bonev B, Cavalli G. Organization and function of the 3D genome. Nat Rev Genet. 2016;17(11):661-78. Epub 2016/10/16. doi: 10.1038/nrg.2016.112. PubMed PMID: 27739532.

23. Dixon JR, Xu J, Dileep V, Zhan Y, Song F, Le VT, et al. Integrative detection and analysis of structural variation in cancer genomes. Nat Genet. 2018;50(10):1388-98. Epub 2018/09/12. doi:

10.1038/s41588-018-0195-8. PubMed PMID: 30202056; PubMed Central PMCID: PMCPMC6301019.

24. Okonechnikov K, Camgoz A, Chapman O, Wani S, Park DE, Hubner JM, et al. 3D genome mapping identifies subgroup-specific chromosome conformations and tumor-dependency genes in ependymoma. Nat Commun. 2023;14(1):2300. Epub 2023/04/22. doi: 10.1038/s41467-023-38044-0. PubMed PMID: 37085539; PubMed Central PMCID: PMCPMC10121654 Inc. The remaining authors declare no competing interests.

25. Valton AL, Dekker J. TAD disruption as oncogenic driver. Curr Opin Genet Dev. 2016;36:34-40. Epub 2016/04/26. doi: 10.1016/j.gde.2016.03.008. PubMed PMID: 27111891; PubMed Central PMCID: PMCPMC4880504.

26. Schmitt AD, Sikkink K, Ahmed AA, Melnyk S, Reid D, Van Meter L, et al. Evaluation of Hi-C Sequencing for Detection of Gene Fusions in Hematologic and Solid Tumor Pediatric Cancer Samples. Cancers (Basel). 2024;16(17). Epub 2024/09/14. doi: 10.3390/cancers16172936. PubMed PMID: 39272793; PubMed Central PMCID: PMCPMC11394547.

27. Stelloo E, Meijers RWJ, Swennenhuis JF, Allahyar A, Hajo K, Cangiano M, et al. Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded-Targeted Locus Capture: A Next-Generation Sequencing Technology for Accurate DNA-Based Gene Fusion Detection in Bone and Soft Tissue Tumors. J Mol Diagn. 2023;25(10):758-70. Epub 2023/07/31. doi: 10.1016/j.jmoldx.2023.06.012. PubMed PMID: 37517473.

28. Troll CJ, Putnam NH, Hartley PD, Rice B, Blanchette M, Siddiqui S, et al. Structural Variation Detection by Proximity Ligation from Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded Tumor Tissue. J Mol Diagn. 2019;21(3):375-83. Epub 2019/01/04. doi: 10.1016/j.jmoldx.2018.11.003. PubMed PMID: 30605765.

29. Mallard C, Johnston MJ, Bobyn A, Nikolic A, Argiropoulos B, Chan JA, et al. Hi-C detects genomic structural variants in peripheral blood of pediatric leukemia patients. Cold Spring Harb Mol Case Stud. 2022;8(1). Epub 2021/11/26. doi: 10.1101/mcs.a006157. PubMed PMID: 34819303; PubMed Central PMCID: PMCPMC8744495.

30. Lam SW, Cleton-Jansen AM, Cleven AHG, Ruano D, van Wezel T, Szuhai K, et al. Molecular Analysis of Gene Fusions in Bone and Soft Tissue Tumors by Anchored Multiplex PCR-Based Targeted Next-Generation Sequencing. J Mol Diagn. 2018;20(5):653-63. Epub 2018/08/25. doi: 10.1016/j.jmoldx.2018.05.007. PubMed PMID: 30139549.

31. Folpe AL. 'I Can't Keep Up!': an update on advances in soft tissue pathology occurring after the publication of the 2020 World Health Organization classification of soft tissue and bone tumours. Histopathology. 2022;80(1):54-75. Epub 2021/12/28. doi: 10.1111/his.14460. PubMed PMID: 34958510.

# Recomendaciones del Grupo de Trabajo de Patología Molecular de la SEAP

# Cómo redactar un informe de NGS para que sea comprensible para patólogos y oncólogos

**Ana María Muñoz-Mármol[1], Beatriz Bellosillo[2] y Javier Hernández-Losa[3]**

1. *Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona*
2. *Laboratorio de Biología Molecular. Servicio de Anatomía Patológica del Hospital del Mar. Barcelona*
3. *Laboratorio de Biología Molecular. Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona*

## INTRODUCCIÓN

La Medicina de Precisión en Oncología ha tenido un gran auge en los últimos años, en gran medida asociado a la disponibilidad de un creciente número de fármacos dirigidos a dianas moleculares cuya eficacia está asociada a la presencia o ausencia de un biomarcador. Su implementación en la actividad de los laboratorios de Anatomía Patológica ha venido de la mano de la tecnología, siendo la secuenciación masiva paralela, más conocida como secuenciación de nueva generación o NGS, una de las herramientas que han logrado aunar el análisis de múltiples biomarcadores en un mismo flujo de trabajo.

La utilización de paneles que abordan el estudio de un número creciente de genes ha incrementado no solo la complejidad de la interpretación de los resultados obtenidos, sino también del informe de aquellos que son clínicamente relevantes. De aquí nace la necesidad de estandarizar no solo qué resultados debemos informar u omitir, sino también cómo hacerlo para garantizar una correcta interpretación del informe por parte del receptor del mismo.

Debemos recordar que el objetivo principal del informe es comunicar de manera fidedigna, sencilla y eficaz los resultados obtenidos. Su contenido es con frecuencia relevante para la toma de decisiones terapéuticas, y por tanto debe cubrir las necesidades del clínico y aportar información suficiente para interpretar de manera correcta los resultados y garantizar la seguridad del paciente. El informe de patología molecular, puede ser leído y discutido por diferentes partes, dentro y fuera del hospital, y con diferentes niveles de conocimiento, incluyendo el propio paciente. En un mundo de creciente movilidad, es especialmente relevante que, además de explicitar de manera clara los resultados relevantes a nivel clínico, el informe aporte suficiente información metodológica para permitir que otros especialistas puedan interpretar correctamente y de manera crítica los resultados obtenidos, su contexto clínico y las limitaciones del estudio. Por último, el informe debe cubrir los requisitos mínimos exigidos en los diferentes estándares de calidad y regulaciones nacionales e internacionales.

Se han publicado numerosas guías y recomendaciones hacia la estandarización del contenido de los informes de NGS (ACMG[1], Nordic Alliance for Clinical Genomics[2], ESMO[3] etc…)., algunas de las cuales han desembocado en la propuesta de plantillas estandarizadas [4]. No obstante, la mayor parte de

propuestas surgen del campo de las enfermedades hereditarias, son con frecuencia interpretables y no siempre fáciles de extrapolar al informe de variantes somáticas.

Con el fin de averiguar cómo se estaban realizando los informes de NGS en patología Molecular en España, desde el grupo de trabajo de Inmunohistoquímica y Biología Molecular de la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP) se realizó el pasado año 2024 un ejercicio donde se evaluó el contenido de 294 informes procedentes de 49 centros españoles que realizan análisis de NGS en muestras de tumores sólidos, pudiendo observar una gran heterogeneidad tanto en el contenido de los apartados, como en la longitud de los mismos. El presente capítulo recoge los elementos requeridos o deseables para el informe de resultados de NGS recomendados por diferentes guías u organismos internacionales[3,5,6]. Pretende así ser un punto de partida y discusión hacia la homogeneización de dichos informes en nuestros centros.

## EL INFORME DE NGS: REQUERIMIENTOS RECOMENDADOS

El informe de los resultados de NGS debe seguir los principios generales de los informes clínicos y los estándares y guías clínicas nacionales[7]. Aunque estos principios se aplican generalmente por defecto en los sistemas de información de nuestros servicios, puede ser necesario revisar su implementación en el caso de emitir informes anexos con plantillas propias para los estudios de NGS. Además, en el contexto de requisitos de calidad, el informe debe cumplir los requisitos establecidos en la norma de acreditación ISO15189 (Laboratorios clínicos-Requisitos para la calidad y la competencia, UNE-EN ISO 15189:2023).

En cada una de las páginas deben figurar los identificadores del paciente, y la numeración debe seguir el formato «número de página respecto al número total de páginas» (ej. Pág.1 de 3), de manera que el lector pueda identificar inequívocamente al paciente en cada una de las páginas y sea consciente en todo momento de si el informe está completo, evitando así la omisión de información relevante.

Es conveniente que la información crítica y más relevante figure al principio, formateada de manera prominente para facilitar que sea vista y entendida, y que dé una respuesta clara, concisa y sin ambigüedades al motivo del estudio, evitando las especulaciones. En este sentido, las guías recientes de ESMO[3], recomiendan incluir un resumen con esta información (equivalente a la interpretación de resultados exigida por la norma ISO15189) en la primera página del informe, previa a la emisión de los resultados detallados del ensayo. Por otro lado, la interpretación clínica no es en sí una guía de tratamiento, sino una ayuda a la interpretación de los resultados obtenidos. Es importante hacer énfasis en que la repercusión de los resultados obtenidos, especialmente de aquellos referentes al tratamiento, dependen del contexto y del historial médico completo de cada paciente, y por tanto deben ser interpretados por el clínico y, si se considerase necesario, por un comité molecular de tumores (MTB). A este respecto, las guías ESMO[3] recomiendan explicitar esta aclaración en el informe y algunos modelos consensuados de informe, como el propuesto desde el *Programa d'oncologia de precisió en el sistema sanitari públic de Catalunya* ya incluyen esta información a modo de Cláusula de exención diagnóstica.

Debemos tener en cuenta que la formación molecular de los receptores de los informes puede ser muy variable, y que la jerga genética puede ser de difícil comprensión para personal clínico no experto en genética u otros usuarios, incluyendo el paciente. Teniendo en cuenta que el informe es ante todo un acto de comunicación, sin detrimento de que la terminología utilizada sea la recomendada por las asociaciones científicas internacionales de referencia, puede ser pertinente introducir además otros términos, particularmente cuando faciliten la comprensión del mismo.

Aunque la creciente cantidad de datos esenciales dificulta la emisión de informes breves, la introducción de informes estructurados y sinópticos, evitando siempre que sea posible los elementos narrativos, puede acortarlo y facilitar su interpretación. Esto es especialmente relevante en una era en que la progresiva introducción de la inteligencia artificial requiere datos estructurados que deben ser interpretables y explotables no solo por humanos sino también por ordenadores. Es aconsejable la utilización de tablas, que facilitan sin duda la lectura de los resultados. Aunque esto no es compatible

en la actualidad con algunos de los sistemas de información de nuestros servicios, es importante trabajar con los diferentes proveedores de los mismos para posibilitar su implantación.

A continuación, se detalla la información de las diferentes secciones del informe según diferentes guías y organismos internacionales (Tabla 1).

**Datos administrativos**

- Datos del laboratorio y, si procede, de los análisis realizados en un laboratorio subcontratista, incluyendo los datos de contacto.
- Facultativo y centro solicitante.
- Número de identificación del estudio.
- Fechas de solicitud y de emisión del informe.
- Nombre del patólogo y biólogo molecular o genetista responsables del estudio.

**Datos del paciente y de la muestra**

- Información demográfica (nombre completo, fecha de nacimiento, sexo biológico), códigos de identificación del paciente en el sistema sanitario, con un mínimo de dos identificadores inequívocos (ej. DNI/NIE, código de identificación personal (CIP) si el paciente dispone del mismo o equivalente en su ausencia, número de historia clínica…), y datos de contacto. Los identificadores del paciente deben figurar en cada una de las páginas del informe.
- Motivo de la solicitud (indicación) y contexto clínico: el contexto del estudio (diagnóstico o progresión al tratamiento, estadio y grado de la neoplasia, alteraciones genéticas y tratamientos previos recibidos, historia familiar de cáncer…) puede ser relevante para la interpretación del mismo y debe incluirse en la solicitud y reflejarse en el informe.
- Datos de la muestra, incluyendo su identificación inequívoca, el diagnóstico histológico si se dispone del mismo, su origen anatómico, el tipo de muestra (biopsia tumoral, citología, etc.), el modo de preservación en el caso de muestras de tejido (muestra FFPE, congelada…) y la representación tumoral aproximada en el caso de muestras de tejido (y número estimado de células si es relevante, por ejemplo en muestras muy escasas).
- No existe consenso sobre si la fecha de obtención de la muestra primaria debe figurar en el informe de NGS. Aunque este dato se incluye en la mayor parte de estándares de informes clínicos, normalmente se aplica en casos en que el estudio se realiza en paralelo, o con poco tiempo de diferencia, a la obtención de la muestra, mientras que los estudios de NGS en muestras tumorales pueden realizarse en ocasiones sobre muestras retrospectivas. Además, en el caso de determinaciones realizadas en centros diferentes al de obtención de la misma es posible que no se disponga de este dato. En el caso de las biopsias líquidas la fecha y hora de obtención de la muestra pueden ser relevantes no solo para la interpretación de los resultados en el contexto clínico del paciente, sino para comprobar los criterios de aceptación de la misma.
- En el caso de que la calidad de la muestra no cumpla los criterios de adecuación del ensayo (ej. porcentaje tumoral mínimo requerido) o pueda comprometer los resultados del análisis, se debe hacer un comentario al respecto.

**Metodología**

Dada la complejidad tanto del estudio como de los procesos de análisis e interpretación de los mismos, la extensión de la sección metodológica puede ser muy variable, dependiendo del detalle de la misma. A fin de acortar el informe final, diferentes guías recomiendan incluir la información más detallada de los ensayos, no esencial para la interpretación diagnóstica de los mismos, en forma de anexos o de links a páginas web [6].

Algunos modelos de informe incluyen la metodología de extracción de ácidos nucleicos y la cantidad/calidad utilizada en los ensayos, aunque la mayor parte de guías no recomiendan específicamente incluir este punto.

La metodología debe incluir el nombre del panel utilizado para la preparación de librerías (incluyendo la versión) y la lista de alteraciones y genes cubiertos por el mismo. Diferentes guías internacionales recomiendan detallar las regiones específicas cubiertas para cada gen. Esto es complejo especialmente en paneles grandes y que cubren genes completos. Tampoco suelen especificarse por ejemplo las fusiones concretas cubiertas en paneles de NGS basados en amplicones. Aunque estos detalles podrían facilitarse por ejemplo en links a páginas web, pueden ser complejos y difíciles de interpretar por el receptor del estudio. En su lugar puede considerarse suficiente incluir notas generales sobre la adecuación del ensayo y sus limitaciones respecto a la indicación del estudio (ej. especificar que las regiones relevantes para la patología están cubiertas por el test y en caso de requerir información más detallada sobre alguna región específica como contactar con el responsable del informe).

Se debe incluir la tecnología y plataforma de secuenciación utilizada y el software y métodos bioinformáticos (incluyendo y actualizando las versiones), así como la versión del genoma de referencia utilizada. La descripción de la metodología aplicada para la detección de variantes debe incluir sus limitaciones (ej. detección de variantes en regiones homopoliméricas o ricas en CpG, etc…). Asimismo, se deben especificar los límites de detección (fracción alélica mínima) de las variantes para ser detectadas e informadas.

En el caso de paneles que analicen carga mutacional (TMB), inestabilidad de microsatélites (MSI), deficiencia de recombinación homóloga (HRD) o firmas mutacionales, se debe especificar la metodología utilizada en el cálculo de los respectivos *scores*.

En general, se recomienda incluir tanto las métricas clave generales del tipo de test como las métricas concretas del estudio (ej: profundidad media de lecturas, uniformidad…) aunque no se especifica que parámetros serían indispensables en el informe.

Es recomendable incluir los criterios aplicados para definir e informar los diferentes tipos de variantes así como el sistema de clasificación de variantes utilizado, tanto a nivel biológico/funcional (oncogénica/probablemente oncogénica/VUS) como a nivel clínico (ESCAT, Tier o nivel de accionabilidad).

Si aplica, se ha de incluir el nivel de certificación del laboratorio y/o acreditación del test, o especificar si cumple la regulación IVDR. En el caso de que el análisis se realice en condiciones diferentes a las de validación, se debe especificar cómo puede afectar a la fiabilidad de los resultados.

**Resultados e interpretación**

Los resultados deben ir encabezados por el nombre de la prueba realizada y una breve descripción de la misma, incluyendo el tipo de alteraciones cubiertas (SNVs/indels, CNVs, variantes estructurales, TMB, MSI, etc…). Dado que los detalles concretos del test realizado se recogen en el apartado de metodología, el título puede ser más o menos genérico.

Es importante realizar una valoración general de la calidad del ensayo, especificando si existen desviaciones de las métricas que puedan condicionar los resultados del análisis. Las recomendaciones ESMO[3] especifican que la valoración general de la calidad del ensayo debería figurar en la primera página junto al resumen de los hallazgos relevantes.

Todas las guías coinciden en que la lista de variantes a informar idealmente debería ordenarse según su nivel de accionabilidad clínica o su valor diagnóstico, preferentemente en formato de tabla. Diversas guías recomiendan incluir además la lista de resultados negativos en genes y patologías específicas, especialmente en los casos en que estos sean relevantes para el tratamiento (ej. no detección de

variantes en *RAS/BRAF* en el caso de cáncer colorectal). También hay consenso en que el informe debe incluir la clasificación funcional o biológica (oncogenicidad o patogenicidad) de las variantes reportadas, así como sus potenciales implicaciones en el pronóstico o tratamiento (accionabilidad) de la neoplasia.

Por último, tanto las guías ESMO[3] como el consenso del grupo italiano[6] recomiendan especificar los resultados no concluyentes y la necesidad de comprobar los mismos mediante técnicas alternativas.

**Nomenclatura**

Tanto el símbolo de los genes como la nomenclatura utilizada para la descripción de las variantes deben seguir los estándares internacionales a fin de evitar posibles ambigüedades.El símbolo del gen debe seguir la nomenclatura aprobada por la Human Genome Organisation (HUGO)[8], donde cada gen consta además de un identificador único y estable (HGNC ID). Dado que los símbolos aprobados continúan en proceso de actualización y eventualmente pueden cambiar, comienzan a aparecer propuestas de acompañar los símbolos con los ID, que sí son estables[9]. Puede darse el caso de que el nuevo símbolo aprobado sea diferente al utilizado mayoritariamente en la bibliografía de referencia del área. En estos casos, puede ser conveniente incluir temporalmente una explicación del cambio en los informes (ej. *H3-3A,* previamente denominado *H3F3A)* para evitar equívocos por parte de sus destinatarios, dando tiempo a que el nuevo símbolo sea familiar en el campo.

La descripción de las variantes identificadas debe seguir las guías de la Human Genome Variation Society (HGVS)[10]. En el caso de las variantes de tipo SNV/INDEL, se debe incluir la anotación a nivel de secuencia codificante (c.) y de proteína (p.) si aplica, así como el tránscrito de referencia utilizado. Aunque las guías HGVS recomiendan utilizar el código de tres letras para los aminoácidos, generalmente las posiciones críticas suelen recogerse en la literatura de referencia en código de una letra (ej. *KRAS* G12C en lugar de *KRAS* Gly12Cys), por lo cual puede ser útil incluir ambas nomenclaturas. Cabe remarcar que, en algunas ocasiones, la numeración de los codones reflejada mayoritariamente en la literatura no sigue la nomenclatura HGVS o es incorrecta. Por ejemplo, en algunas proteínas en que la metionina inicial se elimina tras la traducción, la numeración recogida en la bibliografía comienza en el primer aminoácido de la proteína, mientras que según la HGVS la posición p.1 siempre corresponde a dicha metionina, forme o no parte de la proteína final. Así, normalmente vemos referenciados los residuos K27 o G34 de *H3F3A*, cuando deberíamos hablar de K28 o G35 de *H3-3A*. En estos casos, añadir una nota aclaratoria hasta que la nomenclatura correcta gane presencia en la bibliografía de referencia, puede evitar también confusiones del receptor del informe.

Aunque la nomenclatura HGVS tiene el objeto de definir de manera inequívoca las variantes génicas, aún adolece de algunas imprecisiones o de aspectos que pueden ser interpretables. A fin de evitar al máximo las ambigüedades y de adoptar una sintaxis que pueda ser interpretada de manera fiable tanto por humanos como por máquinas, las guías HGVS también están sujetas a actualización[11] . Esto puede originar que una misma alteración pueda tener una nomenclatura diferente según la versión de las guías utilizada, razón por la cual la HGVS sugiere incluir la versión utilizada en la metodología del informe. Entre las últimas actualizaciones se incluyen nuevas recomendaciones para la definición de las fusiones génicas y la utilización preferente del tránscrito de referencia MANE (Matched Annotation from NCBI and EMBL-EBI Collaboration)[12] siempre que sea posible.

Respecto a las fusiones génicas la nomenclatura HGVS es todavía insuficiente, y recoge únicamente aquellas que originan tránscritos quiméricos (*adjoined transcripts)*. Se han introducido las recomendaciones de la HGNC[13,14] , según la cual los dos genes implicados deben ser separados por :: en lugar de un guión (entre otras razones para diferenciarlo de los guiones que incluyen los símbolos de algunos genes). Del mismo modo que las coordenadas de las variantes SNV/INDEL se dan en referencia a una determinada secuencia de referencia, en el caso de fusiones identificadas a partir de RNA se recomienda anotar las coordenadas a nivel r. (secuencia de referencia de RNA), incluyendo el tránscrito de referencia utilizado. Mientras que la anotación a nivel de secuencia codificante (c.) y de proteína (p.) está ampliamente introducida en los softwares de análisis utilizados, este tipo de anotación de las

fusiones, aunque tiene la ventaja de definirlas de manera inequívoca, no está generalizado, lo que implica de momento un mayor esfuerzo para su aplicación. En el caso de las fusiones identificadas a partir del DNA, las coordenadas genéticas de los puntos de ruptura, aunque poco informativas para el receptor del estudio, pueden ser relevantes para especificar variantes en secuencias no codificantes o, en el caso de tránscritos de fusión, interpretar el efecto de las mismas (puntos de ruptura intra-exónicos, fusiones *in-frame* vs *out-of-frame*, *exon-skipping*…).

Aunque la introducción de la nomenclatura HGVS en la definición de las fusiones evitará en un futuro ambigüedades, no aporta información funcional explícita sobre las mismas (ej. los exones implicados o los dominios que forman parte del tránscrito final). Actualmente no se dispone de suficiente evidencia al respecto, pero comienzan a aparecer estudios que sugieren que diferentes variantes de una misma fusión podrían tener respuestas diferentes al tratamiento. En este sentido, puede ser interesante incluir los exones implicados en el reordenamiento (siempre en referencia a un determinado tránscrito de referencia) o incluso el nombre de la variante si aplica y se considera relevante para la el receptor del informe (ej. *EML4*(13)::*ALK*(20); variante 1).

**Métricas**

Excepto en el caso de la frecuencia alélica en las variantes de tipo SNV/INDEL, no existe consenso sobre si se deben especificar en el informe las métricas concretas de las variantes informadas (número de lecturas, porcentaje de fusiones, etc…). En el caso de las CNVs generalmente se recomienda incluir el número medio estimado de copias, aunque especificar el rango de las mismas puede ser igualmente o más informativo.

**Clasificación funcional de las variantes**

Aunque la clasificación de variantes no es el objeto principal de la presente revisión, hay que tener en cuenta que existen diferentes guías de clasificación, tanto específicas de cáncer[15,16] como generales[1,17] , . Además, algunos tipos de variantes concretos, como las de pérdida de función[18] o las variantes que afectan a las secuencias consenso de *splicing*[19] tienen recomendaciones particulares y cada vez es mayor el número de guías gen-específicas emitidas por paneles de expertos y que refinan las recomendaciones generales de clasificación (los diferentes grupos de trabajo y paneles de expertos así como la documentación de referencia puede consultarse en https://www.clinicalgenome.org/affiliation/vcep/#ep_table_heading, citado 10 marzo 2025).

Por otro lado, la mayor parte de las guías de clasificación son aplicables únicamente a las variantes de tipo SNV/INDEL. En el caso de las variantes o aberraciones en el número de copias (CNVs) las recomendaciones son escasas[20,21,22] y no siempre aplicables a los estudios genéticos en cáncer mediante NGS. Las recomendaciones ESMO[3] aconsejan informar únicamente aquellas CNVs con potencial significado oncogénico (pérdida de copias en supresores tumorales y ganancias/amplificación en oncogenes). Se recomienda también interpretar con cautela tanto las pérdidas como las ganancias de copias de bajo nivel, cuya determinación puede verse afectada por diversos factores (estimación de la representación tumoral en la muestra, aneuploidía, heterogeneidad tumoral, tecnología de secuenciación y software de análisis utilizados, etc.). Respecto a las fusiones génicas, no existen guías generales hasta el momento, aunque un panel de expertos afiliado al CDWG (ClinGen) ha emitido recomendaciones para la evaluación de la oncogenicidad y el significado clínico de fusiones de *NTRK*[23], algunas de las cuales podrían adaptarse a otros genes.

Cabe destacar que las guías de clasificación de variantes generales no siempre son extrapolables a los estudios somáticos en cáncer y que la patogenicidad no siempre es sinónimo de oncogenicidad. Se han descrito, por ejemplo, mutaciones de pérdida de función en el gen *KIT* asociadas al piebaldismo. Aunque estas variantes son patogénicas en el contexto de dicha enfermedad, las alteraciones oncogénicas de *KIT* en cáncer implican ganancia de función, y por tanto las variantes de pérdida de función no se clasificarían como variantes oncogénicas. Otro ejemplo sería la presencia de variantes en

los genes *RAS* descritas en las rasopatías. Aunque estas variantes patogénicas generalmente implican ganancia de función, son generalmente poco frecuentes en cáncer y no siempre conllevan un incremento en el riesgo de padecer esta enfermedad, lo cual las clasifica mayoritariamente como variantes de significado desconocido (VUS) en el contexto oncológico. Por esta razón, recomendamos interpretar las variantes detectadas con cautela y teniendo en cuenta su significado biológico, así como utilizar las categorías funcionales oncogénica (O), probablemente oncogénica (LO) en lugar de las más generales patogénica (P), probablemente patogénica (LP).

En cuanto al tipo de variantes a informar, existe consenso en que las variantes benignas (B) o probablemente benignas (LB) no deberían figurar en el informe y en que éste debe incluir como mínimo las variantes O/LO relevantes para el tratamiento, pronóstico o diagnóstico de la neoplasia. Estas variantes deben ser claramente diferenciadas de otros hallazgos e incluidas en el resumen o la interpretación diagnóstica del estudio.

No existe consenso sobre si deben informarse otras variantes O/LO que en el momento de emisión del informe no tengan implicación directa en el manejo de la enfermedad. Aunque estas alteraciones no tengan una aplicación inmediata, pueden facilitar la revisión rápida de las alteraciones genéticas del tumor en caso de nuevas indicaciones (ej. aprobación de nuevos fármacos), la inclusión de los pacientes en ensayos clínicos o la explicación de posibles mecanismos de resistencia al tratamiento. En contrapartida, especialmente en el caso de los paneles de gran tamaño, el proceso de clasificación de las mismas implica un incremento sustancial del tiempo de análisis. Un enfoque intermedio podría ser generar listas de genes extendidas (*white list*), específicas de indicación, que incluyan no únicamente las variantes con incidencia directa en el diagnóstico o el tratamiento de la enfermedad en el momento de emisión del informe sino también aquellas con posibles implicaciones a corto plazo, descartando de entrada aquellas variantes en oncogenes o supresores tumorales no relacionadas con el tumor, y dando la posibilidad al receptor del informe de solicitar el análisis de otras alteraciones en caso de necesidad.

En cuanto a las VUS, existen discrepancias tanto en función de las recomendaciones de los diferentes organismos como en función de la indicación del estudio (diagnóstica o terapeútica). En el caso de los tumores sólidos, donde la indicación suele estar asociada principalmente al tratamiento, la opinión mayoritaria es omitirlas. Una posible excepción sería el caso de VUS que afecten a genes implicados en el tratamiento (ej. una VUS en el dominio tirosina cinasa de *EGFR* en un adenocarcinoma de pulmón), y que podrían ser variantes minoritarias. En este caso sería aconsejable discutir su inclusión en el informe a nivel de MTB, o directamente con el receptor del estudio. Por otro lado, en las indicaciones esencialmente diagnósticas, como los estudios de neoplasias hematológicas, la tendencia general es la inclusión en el informe de las VUS identificadas en los genes relevantes. En cualquiera de los casos, las VUS deben ser separadas claramente del resto de resultados y haciendo especial énfasis en que se desconoce su valor en la fecha de emisión del informe. En el caso de tumores hipermutados (*POLE*-mutados o MSI) o de hipermutación somática aberrante (aSMH) en neoplasias hematológicas, donde el número de VUS puede ser muy elevado, la inclusión en el informe de su número total (en lugar de la tabla completa de variantes) puede ser útil para facilitar tanto la elaboración como la lectura del mismo.

**Variantes potencialmente germinales**

El uso de paneles de NGS en tumores permite identificar variantes O/LO potencialmente germinales (principalmente en genes supresores tumorales y con VAF superiores al 30 %). Sin la contrapartida no tumoral no es posible diferenciar si su origen es en efecto germinal o somático, lo cual debe recogerse como limitación del estudio. Con frecuencia estos hallazgos se dan en genes que no son el objetivo primario del estudio (no relevantes para el diagnóstico o el tratamiento), pero su presencia en línea germinal puede estar asociada a un incremento del riesgo de padecer futuras neoplasias en el paciente y en sus familiares. El informe de dichas variantes es obligatorio en determinados países y las principales sociedades científicas recomiendan reportarlas a no ser que existan impedimentos legales para su informe (como por ejemplo la ausencia de consentimiento informado al respecto). La ACMG actualiza periódicamente la lista de genes que se recomienda informar como hallazgos secundarios de los

estudios de secuenciación[24] y existen también recomendaciones de ESMO[3] al respecto focalizadas en genes de predisposición al cáncer[25].

**Hematopoyesis clonal**

En el caso de enfermedad hematológica o de estudios en biopsia líquida a partir de plasma existe la posibilidad de que las variantes identificadas en determinados genes no sean propiamente del tumor sino asociadas a la expansión de determinados linajes de las células sanguíneas[26,27,28]. Este fenómeno, conocido como hematopoyesis clonal (CH), es más frecuente en edades avanzadas o tras recibir determinados tratamientos pero pequeños clones de CH se han detectado en la mayoría de individuos mayores de 50 años sanos con técnicas de secuenciación de alta sensibilidad[28]. A semejanza de las variantes potencialmente germinales, a no ser que se caracterice en paralelo el genoma de las células sanguíneas, no es posible discernir de manera inequívoca el origen de las mismas. En el caso de variantes en genes asociados a CH esta limitación debe tenerse en cuenta en la interpretación de los resultados obtenidos e incluirse también en la sección metodológica del informe.

**Interpretación clínica: accionabilidad**

Aunque tanto los estándares de calidad como las diferentes recomendaciones indican que el informe debe incluir la interpretación de los resultados obtenidos, existen discrepancias sobre el contenido y el grado de detalle de dicha interpretación, especialmente en lo que respecta a su implicación a nivel de tratamiento. Las guías ESMO[3] sugieren especificar los fármacos concretos asociados a las variantes identificadas e incluso los ensayos clínicos disponibles. En el extremo opuesto, las recomendaciones del grupo de trabajo italiano[6] consideran que aunque el informe debe incluir la escala de accionabilidad (ESCAT) de las variantes descritas[29,30],la información referente a los fármacos no es competencia del laboratorio emisor del informe sino del MTB o del clínico peticionario. Una visión más extendida, promovida entre otros por EMQN, es la utilización de definiciones genéricas de los tratamientos (ej. anticuerpos anti-EGFR, inhibidores de la tirosina cinasa, etc…). Se ha de tener en cuenta al redactar el informe que una clasificación ESCAT I (dianas a implementar en las decisiones clínicas rutinarias) no siempre va en paralelo a la aprobación de los fármacos asociados por parte de las agencias del medicamento de los diferentes estados, y por tanto no implica necesariamente que el fármaco esté financiado. Respecto a los ensayos clínicos, la mayor parte de guías recomienda no incluirlos en el informe, ya que es difícil disponer de la información actualizada sobre su disponibilidad por parte del centro.

Por último, algunas guías dan la opción de incluir en el informe las evidencias utilizadas en la clasificación biológica y clínica de las variantes, así como las referencias bibliográficas relevantes para dicha clasificación. En las variantes más comunes probablemente esto es innecesario y solo aporte complejidad al informe final. En cambio, en aquellas variantes raras o difíciles de clasificar, puede ser útil detallar las evidencias recogidas en el proceso de análisis, a fin de facilitar una posterior revisión de los resultados obtenidos en caso de necesidad.

**Consideraciones adicionales de los informes moleculares**

Es esencial que los resultados de NGS se interpreten junto con los hallazgos histológicos o citológicos de la muestra analizada, como la evaluación morfológica y la inmunohistoquímica, para asegurar la relevancia clínica de los datos obtenidos. Por este motivo se recomienda que el informe de patología incluya un resumen integrado o suplementario que contenga todos los resultados relevantes de las pruebas y una conclusión general. Además, los resultados deberían comentarse dentro del MTB, especialmente aquellos hallazgos para los que no sea fácil realizar una interpretación y/o recomendación terapéutica (sensibilidad o resistencia a tratamientos disponibles) en base a las alteraciones detectadas.

Por otra parte, es importante asegurar que la emisión de los resultados de NGS se realice en un tiempo adecuado. Se recomienda que este tiempo no sea superior a 10 días hábiles por las implicaciones a nivel de establecer un diagnóstico definitivo o realizar la toma decisiones de tratamiento.

De forma opcional, se pueden incluir en los informes detalles en relación al tiempo transcurrido desde la extracción de la muestra hasta su recepción en el laboratorio, parámetros pre-analíticos, como el método de fijación utilizado, el tiempo de fijación, el método para asegurar el enriquecimiento de células tumorales, contenido celular, método de extracción de ácidos nucleicos o cantidad de ácidos nucleicos utilizada para realizar las determinaciones.

En los casos en que no se hayan cumplido completamente los estándares de calidad del laboratorio, pero se considere que se puede realizar una interpretación limitada, las limitaciones del análisis deben quedar claramente reflejadas en el informe. Este punto incluye, no sólo la calidad y cantidad de los ácidos nucleicos obtenidos, sino también el contenido de células neoplásicas de la muestra. Si la celularidad tumoral está cerca o por debajo de la sensibilidad analítica del método utilizado, se debe incluir una nota que alerte al clínico sobre la posibilidad de un resultado falso negativo.

Como se ha comentado anteriormente, es necesario incluir la tecnología de análisis y las regiones analizadas, pero se pueden añadir, si están disponibles, las limitaciones del test, así como el valor predictivo positivo y negativo de los resultados.

Finalmente, los laboratorios deben contar con un protocolo claramente definido para abordar cualquier hallazgo no solicitado o secundario que pueda surgir durante la prueba, antes de implementar el test de NGS.

## CONCLUSIONES

La redacción del informe de NGS requiere tener en cuenta múltiples consideraciones, desde las recomendaciones de las diferentes guías internacionales hasta el cumplimiento de la normativa vigente en temas de calidad, tanto de certificación como de acreditación de los laboratorios clínicos. Todos estos apartados deben poder ser incluidos en los sistemas informáticos de anatomía patológica y ser explotables por los sistemas de información sin perder de vista que el objetivo principal del informe es responder de manera clara y sin ambigüedades al motivo de la solicitud.

Dada la heterogeneidad constatada en los informes emitidos por nuestros centros es necesario seguir trabajando en la unificación y armonización de los criterios para la redacción de los mismos. Desde el grupo de molecular de SEAP continuaremos realizando nuevas rondas de calidad de informes de NGS con el fin de conseguir este objetivo.

**Tabla 1.** Lista de ítems en un informe de NGS.

| | ISO 15189 | EMQN | Guias Suizas | Guia Italiana | ESMO 2024 | Comentarios |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Datos administrativos:** | | | | | | |
| **Nombre y dirección del laboratorio** | √ | √ | √ | √ | √ | |
| **Nombre del facultativo/centro solicitante** | √ | √ | √ | √ | √ | |
| **Fechas de solicitud y de emisión del informe** | √ | √ | √ | √ | √ | |
| **Código de identificación del estudio** | √ | √ | √ | √ | √ | |
| **Nombre del patólogo/genetista responsable del estudio** | √ | √ | | √ | | Las guías italianas recomiendan especificar patólogo y biólogo molecular/genetista. El resto hablan de responsable en general |
| **Información del paciente y de la muestra** | | | | | | |
| **Paciente** | | | | | | |
| **Datos del paciente: nombre completo, fecha de nacimiento, sexo biológico** | √ | √ | √ | √ | √ | |
| **Código de identificación del paciente en el sistema sanitario (CIP o equivalente) y en el centro (NHC)** | √ | | | | | |
| **Bioespecimen** | | | | | | |
| **Identificación unívoca de la muestra** | √ | √ | √ | √ | √ | |
| **Fecha de obtención de la muestra*** | √ | √ | √ | √ | √ | *Indispensable en biopsia líquida. En el caso de estudios en tejido realizados en centros de referencia es posible que no se disponga del dato |
| **Hora de obtención de la muestra*** | | | | | | *Indispensable en biopsia líquida en plasma |
| **Tipo de muestra (biopsia tumoral, citología, sangre/plasma/fluído cerebroespinal…)** | | | √ | √ | √ | |
| **Orígen anatómico de la muestra (Ej: biopsia de hígado)** | √ | | √ | √ | √ | |
| **Modo de preservación de la muestra (FFPE, tejido congelado…)** | | | | | √ | |
| **Diagnóstico histológico (según sistema de clasificación estandarizado)** | √ | √ | √ | √ | √ | No aplica en caso de estudios con finalidades diagnósticas |
| **Representación tumoral aproximada (en tejido)** | | | √ | √ | √ | |
| **Razón del test y contexto clínico** | | | | | | |
| **Indicación clínica del estudio** | | | √ | √ | √ | |
| **Estadío y grado de la neoplasia (si procede)** | | | | | √ | |

| | ISO 15189 | EMQN | Guias Suizas | Guia Italiana | ESMO 2024 | Comentarios |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Tratamientos previos (si procede)** | | | | | √ | |
| **En caso de recaídas o estudios de resistencia hallazgos genómicos previos** | | | | | √ | |
| **Historia familiar de cáncer (si aplica)** | | | | | √ | |
| **Metodología** | | | | | | Los detalles de la metodología o parte de la misma pueden facilitarse vía link a web o en anexo |
| **Metodología de extracción de ácidos nucleicos, cantidad/calidad de ácido nucleico** | | | | √ | | |
| **Nombre del panel (incluyendo la versión) y lista de las alteraciones y genes cubiertos por el mismo** | √ | √ | √ | | √ | |
| **Detalle de las regiones cubiertas de cada gen** | | | √ | | √ | Dado la extensión de este tipo de archivos se sugiere facilitarlos vía link a web. |
| **Tecnología y plataforma de secuenciación** | √ | | √ | | √ | |
| **Software utilizado y métodos bioinformáticos, incluyendo las versiones** | √ | | √ | | √ | |
| **Estado de certificación del laboratorio/acreditación del test** | | | | √ | | Especificar tipo y fecha de la certificación/acreditación |
| **Genoma de referencia** | | √ | √ | | √ | |
| **Listado de tránscritos de referencia** | | | √ | | | Opcional. En todo caso facilitados vía link a web o en anexo |
| **Descripción de la metodología utilizada para la detección de variantes, incluyendo sus limitaciones (lectura de regiones homopoliméricas, ricas en CpG, deleciones que afecten a varios exones…)** | √ | | √ | | | |
| **Sistema de clasificación de variantes (clínico y biológico) utilizado** | | | √ | √ | √ | |
| **Límite de detección (fracción alélica mínima de la variante para ser detectada (MAF) e informada** | | | | √ | | Especificar si se informan únicamente las variantes a partir de una determinada VAF (ej: 5 %) |
| **Criterios utilizados para definir e informar CNVs** | | | | | √ | |
| **Criterios utilizados para informar SNVs/indels** | | | | | | Especificar si se informan únicamente las variantes accionables, patogénicas o probablemente patogénicas, etc… |

| | ISO 15189 | EMQN | Guias Suizas | Guia Italiana | ESMO 2024 | Comentarios |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Métricas clave generales del ensayo** | | | √ | | √ | Opcional. En todo caso facilitados vía link a web |
| **Descripción de la metodología utilizada para el cálculo de *scores* de carga mutacional (TMB), inestabilidad de microsatélites (MSI), deficiencia de recombinación homóloga (HRD), firmas mutacionales (si aplica)** | √ | | √ | | | En el caso del estudio de TMB *tumor-only*, incluir como limitación la no substracción de variantes germinales por no procesamiento en paralelo muestra no tumoral |
| **En estudios *tumor only*: disclaimer de las limitaciones del método para determinar origen somático versus germinal de las variantes** | | | √ | | √ | |
| **Resultados** | | | | | | |
| **Calidad y parámetros generales del ensayo** | | | | | | |
| **Valoración general de la calidad del ensayo (métricas específicas de cobertura, profundidad de lectura…)** | | | √ | | √ | Incluir input DNA/RNA y métricas (ver apartado metricas). Opcional: incluir valoración exhaustiva de métricas de calidad por regiones en anexo |
| **Desviaciones de las métricas observadas y de su impacto en los resultados del análisis** | | | | | √ | Ej: Especificar si alguna región no ha quedado bien cubierta (posibilidad de falsos negativos) |
| **Variantes reportadas (generalidades)** | | | | | | |
| **Sumario de los hallazgos más relevantes con interpretación diagnóstica** | √ | | | | √* | *Especificando que el traslado de los hallazgos a la práctica clínica requiere su interpretación por el clínico considerando la historia clínica completa del paciente y si se considera necesario, con el soporte del MTB. |
| **Lista de variantes relevantes para el estudio: ordenadas según su nivel de accionabilidad clínica o su valor diagnóstico** | | √ | √ | √ | √ | |
| **Lista de resultados moleculares negativos de las alteraciones requeridas según las guías clínicas en uso (genes y patologías específicos)** | | | opcional | √ | | Ej: especificar RAS/BRAF WT en CCR |
| **Variantes oncogénicas/probablemente oncogénicas no relevantes para la indicación del estudio en la actualidad** | | NO | √ | √ | | Importancia de alteraciones genómicas co-ocurrentes |
| **Variantes de significado incierto** | | NO | | √ | opcional* | *En caso de ser informadas hacerlo claramente segregadas y haciendo especial inciso |

| | ISO 15189 | EMQN | Guias Suizas | Guia Italiana | ESMO 2024 | Comentarios |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | en la incertidumbre de su significado |
| **Variantes potencialmente germinales** | | | √* | | √ | *Excepto en situaciones en que esté legalmente prohibido informar variantes incidentales |
| **Uso de nomenclatura HGVS para genes y variantes (incluyendo fusiones)** | | √ | √ | √ | √ | |
| **Resultados no concluyentes** | √ | | | √ | √ | Especificar claramente que los resultados se tienen que verificar o interpretar con cautela |
| **Clasificación biológica/funcional de la variante (oncogénico/prob oncogénico/VUS)** | | | √ | | √ | Todas las guías coinciden en no informar variantes benignas/probablement e benignas. |
| **Clasificación clínica de la variante (nivel de accionabilidad)** | √ | √ | √ | √ | √ | |
| **Indicación de terapias disponibles asociadas a las alteraciones detectadas o de posible resistencia a terapias (ej. *RAS* mutado en CCR)** | | √* | opcional | NO** | √*** | *Se recomienda no especificar fármacos especícos sino tipo genérico (Ej. Variante asociada a resistencia a terapias con anticuerpos anti-EGFR)<br>**Se considera que la interpretación clínica debe ser realizada por el MTB<br>***Recomienda incluir las terapias específicas asociadas a las variantes en tabla adicional |
| **Evidencias que soportan el nivel de accionabilidad** | | | | | √ | |
| **Rol del gen afectado (supresor tumoral/oncogen)** | | | | | opcional | |
| **SNVs/indels** | | | | | | |
| **Tránscrito de referencia para (preferiblemente MANE)** | | √ | √ | √ | √ | |
| **Secuencia de referencia de la proteína** | | | opcional | | | |
| **Anotación HGVS.c (cambio en el cDNA) y HGVS.p (si es codificante)** | | √ | √ | √ | √ | |
| **Tipo de alteración detectada (SNV/indel)** | | | | | recomendad o | |
| **Frecuencia alélica de la variante** | | √ | √ | √ | √ | |
| **Efecto (missense, frameshift, promotor, splice site…)** | | | | | √ | |
| **Número del exón** | | | opcional | | | |
| **Métricas de calidad de la variante** | | | opcional | | | |
| **Posición en el cromosoma** | | | opcional | | | |
| **Fusiones** | | | | | | |
| **Anotación HGVS de la fusión** | | | | | √ | |

| | ISO 15189 | EMQN | Guias Suizas | Guia Italiana | ESMO 2024 | Comentarios |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Puntos de ruptura genómicos** | | | | | √ | |
| **Tipo de fusión (*in-frame/out of frame, exon skipping*)** | | | | | √ | |
| **CNVs** | | | | | | |
| **Especificar gen y posición en el cromosoma** | | | | | | |
| **Especificar Loss/gain** | | | | | √ | Precaución para informar CNG de bajo nivel y deleciones en heterozigosis para evitar sobreinterpretación |
| **Número medio estimado de copias** | | | | | √ | ESMO: solo informar CNG en oncogenes/loss en TSG como funcionalmente relevantes |
| **Inactivación bialélica de un supresor tumoral o subclonalidad** | | | | | opcional* | Interpretar con cautela y únicamente si se ha validado |
| **Otras consideraciones** | | | | | | |
| **En tumores hipermutados (POLE-mutados o MSI), considerar informar el número total de VUSes en lugar de la tabla completa de las mismas** | | | opcional | | | |
| **Biopsia líquida: contemplar la posibilidad de variantes causadas por hematopoyesis clonal*** | | | | | √* | Incluirlo también como limitación del estudio a no ser que se secuencie en paralelo el DNA de los linfocitos |
| **Si se realiza el análisis en condiciones diferentes a las de validación, se especificar como puede afectar a la fiabilidad de los resultados** | | | √ | | √ | |

## Acrónimos

ACGS: Association for Clinical Genomic Science
ACE: Aberrant Clonal Expansion
ACMG: American College of Medical Genetics and Genomics
AMP: Association for Molecular Pathology
ASCO: American Society for Molecular Pathology
aSHM: aberrant Somatic HyperMutation
CAP: College of American Pathology
CDWG: Clinical Domain Working Groups
CGC: Cancer Genomics Consortium
CH: Clonal Hematopoiesis
ClinGen: Clinical Genome Resouce
CNG: Copy Numer gain
CNV: Copy Number Variation
EMQN: European Molecular Genetics Quality Network

ESCAT: ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets
ESMO: European Society for Medical Oncology
ESMO PMWG: ESMO Precision Medicine Working Group
HGNC: HUGO Gene Nomenclature Commitee
HGVS: Human Genome Variation Society
HRD: Homologous Recombination Deficiency
HUGO: Human Genome Organization
INDEL: insertion deletion
MSI: MicroSatellite Instability
MTB: Molecular Tumor Board
NGS: Next Generation Sequencing
SNV: Single Nucleotid Variant
TMB: Tumor Mutational Burden
TSG: Tumor suppressor gene
VAF: Variant Allele Frequency
VICC: Variant Interpretation for Cancer Consortium
VUS: Variant of Unknown Significance

**Bibliografía**

1. Richards, S. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet. Med. 17, 405–424 (2015).

2. Nadeau W. et al. Clinical reporting of NGS data. A systematic Nordic collaborative, peer-reviewed benchmarking. https://nordicclinicalgenomics.org/assets/main/resources/2018-nacg-paper-clinical-reporting-benchmarking.pdf

3. Van De Haar, J. et al. ESMO Recommendations on clinical reporting of genomic test results for solid cancers. Ann. Oncol. 35, 954–967 (2024).

4. Dufraing, K. et al. Molecular pathology testing for non-small cell lung cancer: an observational study of elements currently present in request forms and result reports and the opinion of different stakeholders. BMC Cancer 22, 736 (2022).

5. Christinat, Y. et al, Reporting of somatic variants in clinical cancer care: recommendations of the Swiss Society of Molecular Pathology. Virchows Archiv 485:1033-1039 (2024)

6. Malapelle, U. et al. Standardized and simplified reporting of next-generation sequencing results in advanced non-small-cell lung cancer: Practical indications from an Italian multidisciplinary group. Crit. Rev. Oncol. Hematol. 193, 104217 (2024).

7. BOE (2010). Real Decreto 1093/2010, de 3 de septiembre, por el que se aprueba el conjunto mínimo de datos de los informes clínicos en el Sistema Nacional de Salud. Anexo V. (recuperado de https://www.boe.es/eli/es/rd/2010/09/03/1093)

8. Seal, R. L. et al. Genenames.org: the HGNC resources in 2023. Nucleic Acids Res. 51, D1003–D1009 (2023).

9. Fujiyoshi, K. et al. Standardizing gene product nomenclature—a call to action. Proc. Natl. Acad. Sci. 118, e2025207118 (2021).

10. Den Dunnen, J. T. et al. HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update. Hum. Mutat. 37, 564–569 (2016).

11. Hart, R. K. et al. HGVS Nomenclature 2024: improvements to community engagement, usability, and computability. Genome Med. 16, 149 (2024).

12. Morales, J. et al. A joint NCBI and EMBL-EBI transcript set for clinical genomics and research. Nature 604, 310–315 (2022).

13. Bruford, E. A. et al. HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC) recommendations for the designation of gene fusions. Leukemia 35, 3040–3043 (2021).

14. Wagner, A. H. et al. Recommendations for future extensions to the HGNC gene fusion nomenclature. Leukemia 35, 3611–3612 (2021).

15. Li, M. M. et al. Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. J. Mol. Diagn. JMD 19, 4–23 (2017).

16. Horak, P. et al. Standards for the classification of pathogenicity of somatic variants in cancer (oncogenicity): Joint recommendations of Clinical Genome Resource (ClinGen), Cancer Genomics Consortium (CGC), and Variant Interpretation for Cancer Consortium (VICC). Genet. Med. 24, 986–998 (2022).

17. Durkie. ACGS Best Practice Guidelines for Variant Classification in Rare Disease 2024.

18. Abou Tayoun, A. N. et al. Recommendations for interpreting the loss of function PVS1 ACMG/AMP variant criterion. Hum. Mutat. 39, 1517–1524 (2018).

19. Walker, L. C. et al. Using the ACMG/AMP framework to capture evidence related to predicted and observed impact on splicing: Recommendations from the ClinGen SVI Splicing Subgroup. Am. J. Hum. Genet. 110, 1046–1067 (2023).

20. Mikhail, F. M. et al. Technical laboratory standards for interpretation and reporting of acquired copy-number abnormalities and copy-neutral loss of heterozygosity in neoplastic disorders: a joint consensus recommendation from the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Cancer Genomics Consortium (CGC). Genet. Med. 21, 1903–1916 (2019).

21. Eijkelenboom, A. et al. Recommendations for the clinical interpretation and reporting of copy number gains using gene panel NGS analysis in routine diagnostics. Virchows Arch. 474, 673–680 (2019).

22. Riggs, E. R. et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). Genet. Med. 22, 245–257 (2020).

23. Saliba, J. et al. Standardized evidence-based approach for assessment of oncogenic and clinical significance of NTRK fusions. Cancer Genet. 264–265, 50–59 (2022).

24. Miller, D. T. et al. ACMG SF v3.2 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: A policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). Genet. Med. 25, 100866 (2023).

25. Kuzbari, Z. et al. Germline-focused analysis of tumour-detected variants in 49,264 cancer patients: ESMO Precision Medicine Working Group recommendations. Ann. Oncol. 34, 215–227 (2023).

26. Chao, E. C. et al. Incidental detection of acquired variants in germline genetic and genomic testing: a points to consider statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). Genet. Med. 23, 1179–1184 (2021).

27. Kessler, M. D. et al. Common and rare variant associations with clonal haematopoiesis phenotypes. Nature 612, 301–309 (2022).

28. Bernstein, N. et al. Analysis of somàtic mutations in whole blood from 200,618 individduals identifies pervasive positive selection and novel divers of clonal hematopoiesis. Nature Genetics 56, 1147-1155 (2024).

29. Mateo, J. et al. A framework to rank genomic alterations as targets for cancer precision medicine: the ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets (ESCAT). Ann. Oncol. 29, 1895–1902 (2018).

30. Mosele, M. F. et al. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with advanced cancer in 2024: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. Ann. Oncol. S092375342400111X (2024) doi:10.1016/j.annonc.2024.04.005.

# Recomendaciones del Grupo de Trabajo de Patología Intervencionista de la SEAP

# Punción Aspiración con Aguja Fina (PAAF) y Biopsia con Aguja Gruesa (BAG) con guía ecográfica en Patología Intervencionista: La importancia de su uso combinado

**Karen Villar Zarra[1], Héctor Enrique Torres Rivas[2], Jesús M. Nieves Alonso[3,] María del Mar Olmo Fernández[1], Luis Manuel Fernández Fernandez[2], Mario Berrios Hernandez[2], María de la Paz González Gutierrez[2], Santiago Nieto Llanos[1]**

1. *Hospital Universitario del Henares. Servicio de Anatomía Patológica. Coslada*
2. *Hospital Universitario Central de Asturias. Servicio de Anatomía Patológica. Oviedo*
3. *Hospital Universitario de La Princesa. Servicio de Anestesia y Reanimación. Madrid*

## INTRODUCCIÓN

La patología intervencionista ha evolucionado significativamente con la implementación de la punción aspiración con aguja fina (PAAF) y la biopsia con aguja gruesa (BAG) como las principales técnicas para la obtención de muestras citológicas y tisulares. Durante años, ha existido un debate sobre cuál de estas técnicas es superior. Sin embargo, en lugar de considerarlas como métodos en competencia, la evidencia actual respalda su uso combinado como una estrategia complementaria que mejora la precisión diagnóstica, minimiza la necesidad de procedimientos repetidos y optimiza los resultados para el paciente [1,2].

El avance en los dispositivos de biopsia ha permitido integrar nuevas tecnologías que optimizan la obtención de tejido sin comprometer la seguridad del paciente. La aparición de dispositivos automatizados ha reducido las tasas de fallos en la toma de muestra y ha mejorado la selección del método diagnóstico adecuado para cada caso. Este capítulo explorará los fundamentos del uso combinado de la PAAF y la BAG, revisando sus fortalezas, limitaciones y el impacto del diseño del dispositivo en la calidad de la muestra obtenida. También se discutirá la importancia de este enfoque en la educación médica y la formación de residentes, resaltando su utilidad en la enseñanza de la patología intervencionista [3].

## HISTORIA Y EVOLUCIÓN DE LA PAAF Y LA BAG

La PAAF fue introducida como una técnica mínimamente invasiva a finales del siglo XIX, pero no fue hasta el siglo XX cuando su uso se expandió ampliamente en el diagnóstico de neoplasias. Inicialmente, se utilizaba en lesiones superficiales palpables; sin embargo, la incorporación de la guía ecográfica permitió su aplicación en órganos profundos como pulmón, hígado y páncreas, mejorando significativamente su precisión y rendimiento diagnóstico [4,5].

Por otro lado, la BAG surgió como una técnica que ofrecía muestras con preservación de la arquitectura tisular, facilitando el análisis histológico, inmunohistoquímico y molecular. Su evolución

estuvo marcada por el desarrollo de dispositivos en principio manuales y luego automatizados que optimizaron la recolección de tejido y redujeron las complicaciones asociadas al procedimiento [6]. Estudios recientes han demostrado que la combinación de BAG con PAAF permite una evaluación más completa de la lesión, evitando procedimientos quirúrgicos innecesarios para toma de biopsias diagnósticas y mejorando la toma de decisiones clínicas [7].

## MATERIALES Y EQUIPAMIENTO PARA PROCEDIMIENTOS DE PAAF Y BAG

Para la correcta realización de procedimientos de punción aspiración con aguja fina y biopsia con aguja gruesa, es fundamental contar con el equipamiento adecuado. La selección de materiales impacta directamente en la calidad de la muestra obtenida, la seguridad del paciente y la eficiencia del procedimiento. A continuación, se detallan los principales insumos necesarios para cada técnica.

### Materiales para PAAF

- Agujas de PAAF:
  - Gama de agujas de aspiración fina, típicamente de calibre 25 ó 23G [de 20 a 27G] para la toma de muestras citológicas.
- Dispositivos Auxiliares:
  - Portador de aguja Cameco® para mejorar la estabilidad y precisión en la manipulación de la aguja.
  - Tubos de extensión (alargaderas) comúnmente utilizados en accesos venosos, permitiendo que un asistente maneje la aspiración con la jeringa mientras el operador controla la aguja. (Figura 1)
- Suministros para las Preparaciones de Citología:
  - Microscopio para *Rapid On-Site Evaluation* (ROSE), permitiendo la evaluación inmediata de la muestra.
  - Portaobjetos de vidrio (o sustratos equivalentes) para la preparación de las muestras citológicas.
  - Colorantes citológicos, como Diff-Quik y alcohol al 90 % para la tinción de Papanicolaou, Hematoxilina Eosina, etc.
  - Medio fijador para citología en base líquida o citología convencional, de acuerdo con las especificaciones del laboratorio.
- Jeringas:
  - Jeringas de 10 o 20 mL para la aspiración de muestras.
- Antisépticos y Accesorios para Imágenes:
  - Soluciones antisépticas a base de clorhexidina acuosa para la preparación de la piel.
  - Fundas estériles para transductores de ultrasonido y el gel ecográfico correspondiente.
- Suministros Generales:
  - Gasas estériles.
  - Guantes estériles.
- Ecógrafo con sonda lineal (recomendable para realizar el procedimiento de punción) (Figura 2).

**Figura 1.** Dispositivo de sujeccion de jeringas Cameco® con tubo alargador para la aguja.

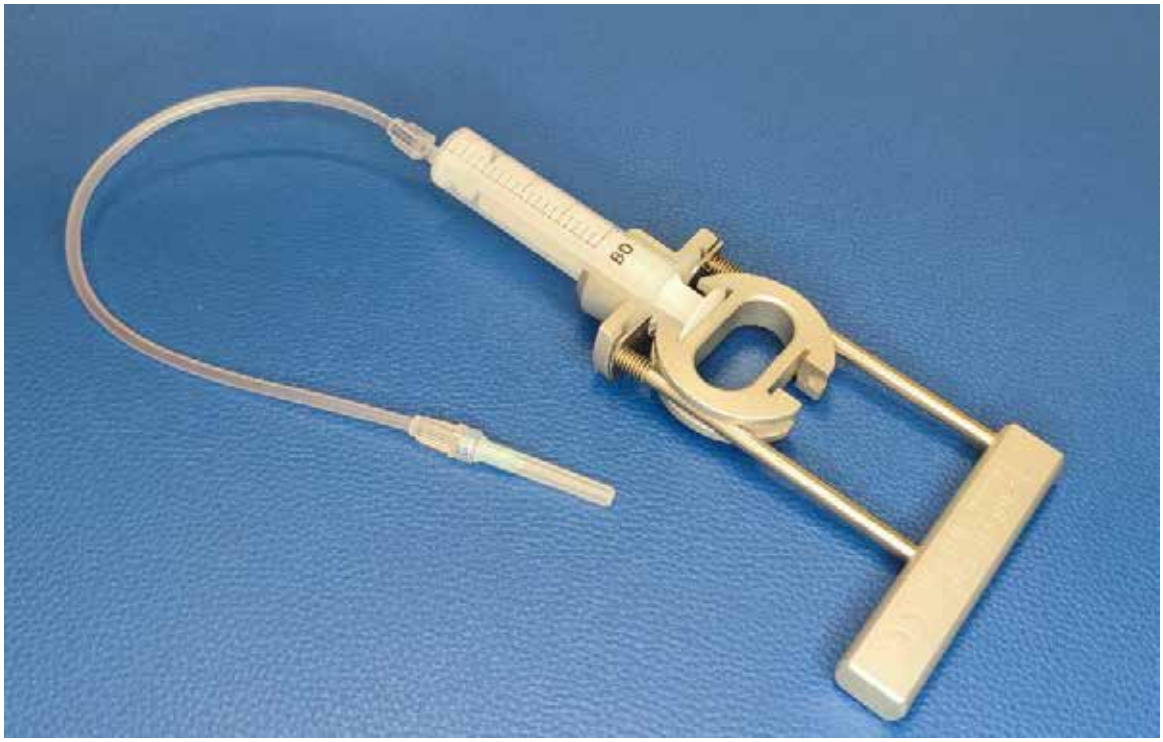


**Figura 2.** Sonda lineal (L4-12t) de GE Healthcare. Imagen tomada del Manual del Curso Ecografia Intervencionista para Patologos.

**Materiales para BAG**

- Agujas y Dispositivos de Biopsia con Aguja Gruesa:
  - Selección de agujas de biopsia con aguja gruesa (calibres entre 11G y 20G) con diversos mecanismos de corte para la obtención de muestras tisulares (Figura 3).
  - Dispositivos de biopsia automatizados y manuales, con opciones de uso con y sin introductor coaxial.
- Herramientas Auxiliares para la Biopsia:
  - Bisturí No. 11 para realizar una pequeña incisión en la piel antes de una biopsia percutánea.
- Material para Cierre de Heridas:
  - Suturas de calibre fino para aproximación de heridas.
  - Insumos para procedimientos quirúrgicos menores en casos de biopsias más amplias.
  - Steri-Strips para el cierre de la piel y apósitos estériles para cubrir el sitio de punción o biopsia.
- Manejo y Transporte de Muestras:
  - Recipientes específicos para la conservación de la muestra tisular (botes con sello de formol).
  - Materiales adecuados para el transporte de muestras destinadas a citometría de flujo, asegurando el cumplimiento de las especificaciones del laboratorio.
- Antisépticos y Accesorios para Imágenes:
  - Soluciones antisépticas de clorhexidina acuosa para la desinfección de la piel.
  - Fundas estériles para transductores de ultrasonido y gel ecográfico compatible.
- Suministros Generales:
  - Guantes estériles y gasas estériles para la manipulación segura del procedimiento.
- Anestésicos locales
  - Mepivacaía, lidocaína.
  - Anestésicos combinados (Mepivacaina + Epinefrina) (Figura 4).

**Figura 3.** Dispositivos de biopsia Mission™ de BD de distintos calibres: 20G Amarillo, 18G Rosa, 16G Morado, 14G Verde.

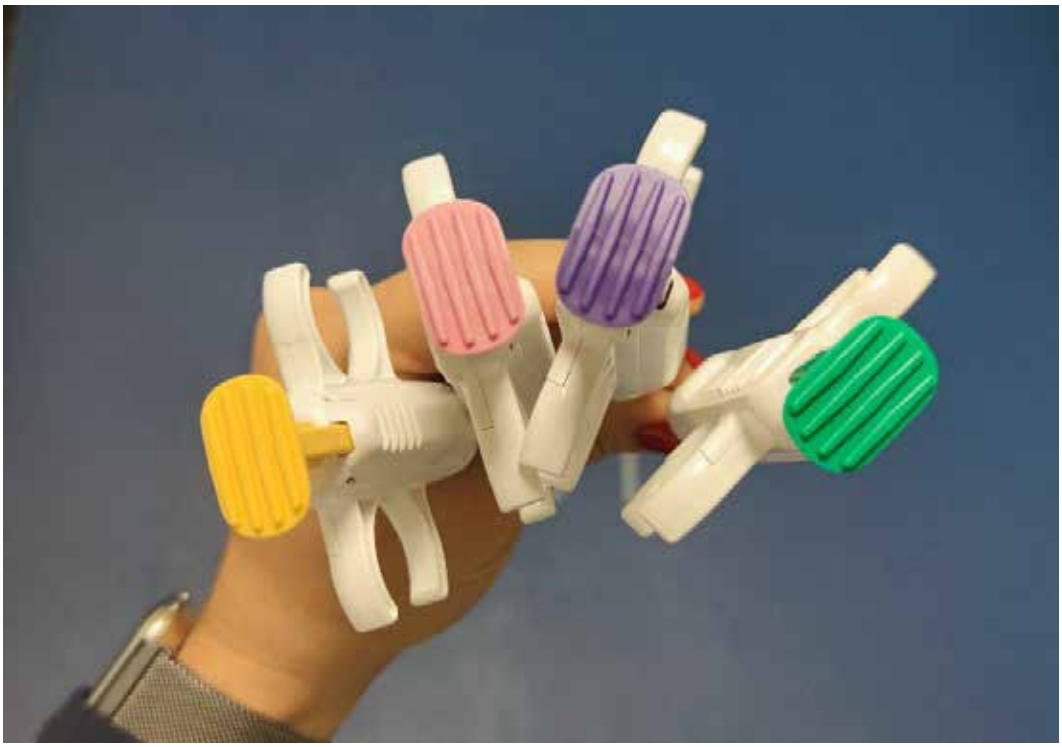


**Figura 4.** Vial de anestesico combinado (Mepivacaina – Epinefrina al 2 %).

**FUNDAMENTOS DEL MANEJO DE DISPOSITIVOS DE BIOPSIA CON AGUJA GRUESA**

El uso adecuado de los dispositivos de biopsia con aguja gruesa es crucial para garantizar la calidad diagnóstica, minimizar artefactos y reducir el riesgo de complicaciones. La selección del dispositivo más apropiado depende de múltiples factores, como la ubicación anatómica de la lesión, la densidad del tejido, la necesidad de preservar la arquitectura tisular y los estudios complementarios requeridos.

Los dispositivos de BAG pueden clasificarse en dos categorías principales según su mecanismo de corte y recolección de la muestra:

**Agujas de Corte Lateral (Side-Cutting Needles)**

Estas agujas cuentan con un mecanismo de doble componente, compuesto por un estilete con una ranura donde se aloja el tejido (reservorio) y una cánula externa de corte que lo separa del lecho de la biopsia (Figura 5).

**Figura 5.** Dispositivo de corte lateral (Side-cutting) con un cilindro de muestra en el reservorio (ranura del estilete).

Características y ventajas:

- **Alta resistencia mecánica**, lo que las hace ideales para biopsiar tejidos fibrosos o calcificados, como lesiones postradioterapia.
- **Control de la orientación del corte**, permitiendo variaciones en la dirección de la muestra, útil en espacios anatómicos reducidos.
- **Mayor precisión** en la obtención de muestras cilíndricas sin fragmentación, optimizando el análisis histopatológico.

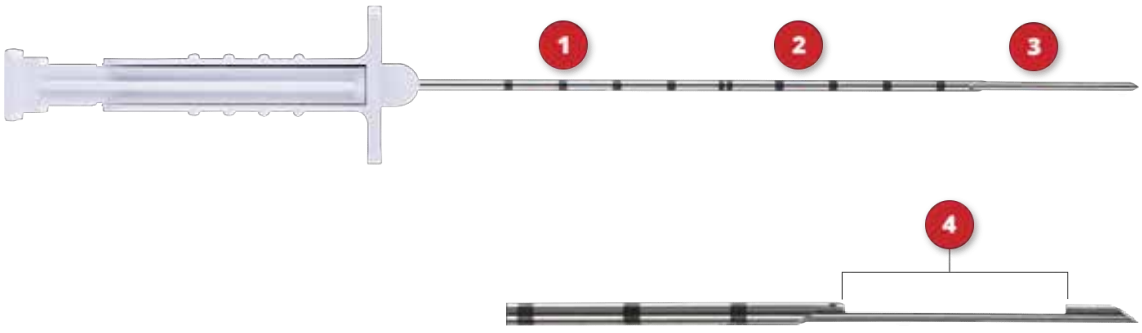
Ejemplos de dispositivos:

- **Mission® (Figura 6) y Marquee® (Figura 7) (BD-Bard):** Dispositivos semiautomáticos ampliamente utilizados en biopsias de tejidos blandos y lesiones profundas.
- **Tru-Cut® (Figura 8) (Merit Medical):** Clásico en la obtención de muestras con un sistema manual de corte lateral.
- **Temno Evolution® (CareFusion/BD):** Ofrece una mejor manipulación con mecanismos automáticos que facilitan la penetración y extracción del tejido.

**Figura 6.** Instrumento de Biopsia Semiautomático Mission™ de BD.

**Figura 7.** Instrumento de Biopsia Marquee™ de BD.

**Figura 8.** Dispositivo de biopsia Tru-Cut® de Merit Medical.



Aplicaciones clínicas:

- **Lesiones mamarias sospechosas** que requieren diferenciación entre carcinoma in situ e invasivo.
- **Biopsias hepáticas o renales**, donde la preservación de la estructura del tejido es crucial para el diagnóstico.
- **Ganglios linfáticos superficiales y/o profundos**, en los casos en los que sea necesario obtener muestra tisular como alternativa al procedimiento quirúrgico (como por ejemplo en el diagnóstico de carcinomas o síndromes linfoproliferativos).
- **nódulos de partes blandas.**
- **Biopsias musculares percutáneas.**

**Agujas de Corte Terminal (End-Cutting Needles)**

A diferencia de las agujas de corte lateral, estos dispositivos capturan la muestra dentro de una cámara de recolección en la punta y la sellan con un mecanismo de guillotina.

Características y ventajas:

- **Obtención de muestras de mayor volumen**, mejorando la representatividad tisular en cada pase.
- **Preservación de la integridad estructural** del tejido, facilitando estudios histopatológicos, inmunohistoquímicos y moleculares.
- **Reducción del número de pases** de biopsia, disminuyendo el riesgo de sangrado y trauma en el sitio de punción.

Ejemplos de dispositivos:

- **Biopince™ (Argon Medical Devices):** Ofrece cortes de alta precisión con menor fragmentación tisular.
- **FHC Achieve™ (Merit Medical):** Dispositivo de biopsia automática que mejora la eficiencia en tejidos profundos.
- **SuperCore™ (Tsunami Medical):** Diseñado para biopsias de alta precisión con preservación óptima del tejido.

Aplicaciones clínicas:

- **Biopsias de próstata:** Necesitan alta calidad de muestras para la clasificación de neoplasias agresivas.
- **Tumores musculoesqueléticos:** Mejoran la evaluación de sarcomas gracias a la preservación arquitectural.
- **Lesiones pancreáticas o hepáticas sospechosas de malignidad,** donde la histología y la inmunohistoquímica son esenciales para el diagnóstico.

## COMPARACIÓN Y SELECCIÓN DEL DISPOSITIVO APROPIADO

Diversos estudios han comparado el rendimiento de los distintos dispositivos de BAG en función de la ubicación anatómica, la calidad de la muestra y la seguridad del procedimiento. Las diferencias entre los dispositivos se reúnen en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Diferencias entre los dispositivos de biopsia.

| Característica | Agujas de Corte Lateral | Agujas de Corte Terminal |
|---|---|---|
| **Resistencia** | Alta (útil en tejidos fibrosos) Robustez del dispositivo | Media-alta (mejor en tejidos blandos) |
| **Fragmentación tisular** | Moderada | Mínima |
| **Volumen de muestra** | Medio | Alto |
| **Preservación estructural** | Buena | Excelente |
| **Número de pases necesarios** | Múltiples | Menos pases requeridos |
| **Indicaciones clínicas** | Fibrosis, ganglios linfáticos | Tumores sólidos, biopsias profundas |

**CONSIDERACIONES FINALES EN LA SELECCIÓN DEL DISPOSITIVO**

- **Si se busca precisión y control manual en biopsias de tejidos densos,** las agujas de corte lateral son preferibles.
- **Para estudios histopatológicos y moleculares**, se pueden realizar mas pases con calibres mas finos (mayor representatividad) o menos pases con calibres mas gruesos (mayor cantidad de muestra).
- **La automatización en los dispositivos de BAG ha mejorado la seguridad y eficiencia,** reduciendo la necesidad de múltiples pases y optimizando la experiencia del operador.

El desarrollo de nuevas tecnologías en biopsias con aguja gruesa ha permitido mejorar la seguridad y calidad del procedimiento, facilitando su aplicación en diferentes especialidades médicas. La correcta selección del dispositivo y la capacitación del operador son esenciales para optimizar los resultados diagnósticos.

**Implicaciones en la Práctica Clínica**

Los avances tecnológicos en los dispositivos de BAG han permitido mejorar la seguridad y eficacia de las biopsias percutáneas, reduciendo las tasas de complicaciones y mejorando la calidad del tejido obtenido [8]. Para lograr una integración óptima de estos dispositivos en la práctica clínica, se deben considerar los siguientes aspectos:

- **Capacitación del operador** en el uso de distintos diseños de agujas, garantizando un manejo adecuado según la localización y características de la lesión.
- **Selección del calibre y mecanismo de la aguja** en función del órgano a biopsiar y la necesidad de preservar la arquitectura tisular.
- **Evaluación de la relación costo-beneficio**, priorizando el uso de dispositivos que equilibren precisión diagnóstica y eficiencia operativa.

**Elección de Dispositivos de Biopsia para Procedimientos**

La selección del dispositivo de biopsia es un aspecto clave para maximizar el rendimiento diagnóstico y minimizar complicaciones. Para determinar la herramienta más adecuada en procedimientos de PAAF y BAG, se deben considerar varios factores:

Consideraciones Anatómicas y Características de la Lesión:

- La **ubicación, profundidad y vascularización** de la lesión son determinantes en la elección del abordaje. Se recomienda una evaluación ecográfica previa para definir la estrategia de biopsia más segura y eficaz.
- En lesiones **superficiales (palpables o no),** la PAAF es la opción inicial óptima para obtener información citológica rápida y, si es necesario, complementar con BAG para un análisis histológico más detallado.
- En lesiones **complejas o con sospecha de malignidad**, se recomienda el uso combinado de BAG para preservar la arquitectura tisular y permitir estudios complementarios como inmunohistoquímica, biología molecular y genética [1,9].

Calibre y Diseño de la Aguja:

- Las **agujas para PAAF** (típicamente ≥22G) emplean la acción capilar para la recolección de material citológico, lo que las hace ideales para la evaluación morfológica celular. Sin embargo, en ciertos casos pueden no proporcionar suficiente tejido para estudios adicionales.
- La **PAAF con evaluación rápida en el sitio (ROSE)** optimiza la obtención de la muestra, permitiendo al operador decidir en tiempo real si se requiere una BAG posterior (Lieu, 2008; Villar-Zarra, 2025).
- Los **dispositivos de BAG** (calibres entre 11G y 20G) permiten obtener muestras con integridad estructural preservada, lo que resulta fundamental para la evaluación histopatológica y pruebas moleculares.

Mecanismos del Dispositivo y Eficiencia Operativa:

- Los **dispositivos automatizados de BAG** han optimizado la obtención de muestras con un mecanismo de corte controlado, lo que minimiza artefactos y mejora la precisión diagnóstica. Son especialmente útiles en tejidos densos, como fibrosis postradioterapia, biopsias musculares y lesiones de partes blandas [1].
- Las **agujas de biopsia manuales** pueden ser más favorables en áreas anatómicas complejas como cabeza y cuello o para abordar lesiones pequeñas con alta precisión.
- Los **sistemas coaxiales** facilitan el acceso a lesiones de difícil localización, reducen la contaminación del trayecto con tejido tumoral y permiten la toma de múltiples muestras en una sola, mejorando la recuperación del paciente (Figura 9).

**COSTO Y UTILIZACIÓN DE RECURSOS**

Aunque la **BAG suele implicar un mayor costo** y generalmente requiere guía ecográfica, su versatilidad permite, de forma estandarizada, la implementación de técnicas complementarias (inmunohistoquímica, molecular, etc.), lo que justifica la inversión, especialmente cuando se emplea en combinación con la PAAF.

La disponibilidad de **ecógrafos portátiles** ha democratizado el acceso a la patología intervencionista, reduciendo costos operativos y mejorando la accesibilidad de los procedimientos en entornos clínicos menos especializados[1]. (Figura 10).

**Figura 9.** Dispositivo de biopsia Mission™ de BD con coaxial.

**Figura 10.** Ecógrafo portátil de bolsillo vScanAir™ de GE Healthcare.

## EXPERIENCIA DEL OPERADOR Y CAPACITACIÓN

La **habilidad del operador** en la selección del dispositivo y la ejecución del procedimiento influye significativamente en la precisión diagnóstica.

La **formación continua** en PAAF y BAG es esencial para garantizar un rendimiento óptimo en la obtención de muestras y minimizar la tasa de resultados no concluyentes [9].

## APLICACIONES CLÍNICAS DEL USO COMBINADO DE PAAF Y BAG

El uso complementario de la PAAF y la BAG es particularmente beneficioso en diversos escenarios clínicos, donde su combinación maximiza la precisión diagnóstica y evita procedimientos innecesarios. Entre las principales aplicaciones se incluyen:

- **Lesiones de mama:** La BAG ha reemplazado en gran medida a la PAAF en la evaluación de lesiones mamarias, ya que permite diferenciar entre carcinoma in situ e invasivo. Sin embargo, la PAAF sigue siendo útil en casos específicos, como en masas quísticas o cuando se requiere una evaluación citológica rápida para orientación diagnóstica inicial, o en pacientes con un índice de Karnosfky (Karnofsky Performance Status, KPS) bajo, con limitación del esfuerzo terapéutico[1].
- **Nódulos tiroideos:** La PAAF es la técnica inicial en la evaluación de nódulos tiroideos debido a su baja invasividad y alta precisión en la identificación de lesiones benignas y malignas. La indicación de la BAG de lesiones tiroideas está limitada a casos excepcionales como por ejemplo Carcinoma Anaplásico del tiroides (para determinaciones moleculares), lesiones fibrosantes como tiroiditis de Riedel o metastasis de otras lesiones al tiroides [9].
- **Ganglios linfáticos:** La PAAF es altamente efectiva para detectar malignidad~~es~~ en ganglios linfáticos, y se utiliza ampliamente en el diagnóstico de metástasis y descarte de linfomas. Aunque es un tema controversial, la BAG puede ser una alternativa menos cruenta/costosa a la biopsia abierta, en el diagnóstico inicial de síndromes linfoproliferativos, sobre todo cuando es realizada por un operador adecuadamente entrenado en el procedimiento, y realiza comprobación y gestión de la muestra. Sin embargo, en caso de Linfomas de Hodgkin o cuando se necesita una evaluación estructural completa, la biopsia abierta es recomendable por su capacidad de preservar la disposición tisular [6].
- **Lesiones hepáticas y pancreáticas:** La PAAF es ideal para el diagnóstico citológico de tumores hepáticos y pancreáticos, proporcionando una evaluación rápida y mínimamente invasiva [5].

## EL ROL COMPLEMENTARIO DE LA PAAF Y LA BAG

La complementariedad de la PAAF y la BAG permite aprovechar las ventajas de ambas técnicas y minimizar sus limitaciones. La selección de la técnica adecuada depende de las características de la lesión, el contexto clínico y los estudios complementarios requeridos.

Ventajas de la PAAF:

- **Mínimamente invasiva:** Procedimiento rápido, económico y con baja tasa de complicaciones6.
- **Evaluación en tiempo real con ROSE:** Permite mejorar la adecuación de la muestra y optimizar la toma de decisiones en el momento del procedimiento 9.
- **Óptima para el análisis celular:** Especialmente útil en la detección de malignidades, descarte de linfomas y enfermedades metastásicas.
- **Adecuada para lesiones superficiales:** Se utiliza ampliamente en la evaluación de nódulos tiroideos, ganglios linfáticos y masas de tejidos blandos.

Limitaciones de la PAAF:

- **No preserva la arquitectura tisular:** Puede no ser suficiente para la evaluación histopatológica completa o para el diagnóstico de ciertas neoplasias.
- **Mayor tasa de muestras no diagnósticas:** En casos de lesiones fibróticas, necróticas o de difícil acceso, puede ser necesario complementar con BAG para obtener un diagnóstico definitivo 1.

Ventajas de la BAG:

- **Valoracion inmediata de la muestra:** Si el procedimiento es realizado por el patólogo, o se encuentra presente en el momento de la toma de la muestra, debe realizarse la valoración inmediata del cilindro de BAG mediante la metodología combinada de «touch imprint cytology» y ROSE.
- **Preserva la arquitectura tisular:** Fundamental para la evaluación histopatológica, inmunohistoquímica y pruebas moleculares[9].
- **Menor tasa de resultados no concluyentes:** Proporciona muestras con mayor contenido tisular, lo que reduce la necesidad de procedimientos adicionales.
- **Mayor precisión en ciertos tumores malignos:** Permite diferenciar entre carcinoma invasivo e in situ, así como evaluar características arquitecturales clave.
- **Preferida para lesiones profundas:** Se utiliza en biopsias de mama, hígado, riñón, pulmón y tumores musculoesqueléticos.

Limitaciones de la BAG:

- **Más invasiva que la PAAF:** Requiere anestesia local y presenta un mayor riesgo de sangrado y complicaciones.
- **Tiempo de procesamiento más largo:** La preparación histológica y los estudios inmunohistoquímicos requieren más tiempo en comparación con la citología obtenida por PAAF.

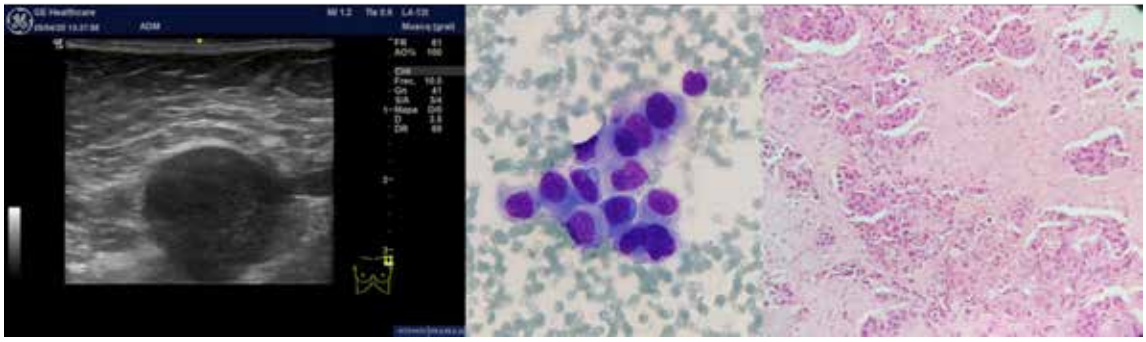
## CONCLUSIÓN

Los avances en el diseño de dispositivos de biopsia percutánea con aguja gruesa han mejorado significativamente la calidad de las muestras obtenidas para el diagnóstico histopatológico y molecular. La selección del dispositivo más adecuado debe basarse en una combinación de consideraciones anatómicas, la calidad de la muestra deseada y la experiencia del operador, garantizando así un procedimiento eficaz y seguro.

El abordaje moderno en patología intervencionista no debe considerar la PAAF y la BAG como técnicas excluyentes, sino como herramientas complementarias cuyo uso combinado, guiado por ecografía, optimiza la toma de decisiones clínicas y mejora la calidad del diagnóstico (Figura 11).

Esta estrategia integrada no solo mejora la eficiencia diagnóstica, sino que también minimiza la necesidad de procedimientos repetidos y reduce el impacto invasivo en el paciente.

**Figura 11.** Vision combinada de la Patologia. Vision ecografica, citologica e histologica de una lesion de mama.



**MENSAJES CLAVE**

El **uso combinado de PAAF y BAG optimiza la precisión diagnóstica**, minimiza la necesidad de procedimientos adicionales y permite una evaluación integral de las lesiones sospechosas.

La **ecografía es una herramienta esencial** que facilita la toma de muestras con ambas técnicas y mejora la seguridad del procedimiento.

La **PAAF es preferida en lesiones superficiales y para estudios citológicos rápidos**, mientras que la BAG es más efectiva para preservar la arquitectura tisular y realizar estudios histopatológicos y moleculares.

El **entrenamiento en estas técnicas es fundamental** para los patólogos en formación, permitiéndoles adquirir habilidades en el uso de ambas modalidades y mejorar la atención al paciente.

El **futuro de la patología intervencionista radica en la integración de técnicas complementarias**, optimizando la toma de decisiones clínicas y reduciendo la necesidad de biopsias quirúrgicas innecesarias.

**Bibliografía**


1. VanderLaan PA. Fine-needle aspiration and core needle biopsy: An update on two common minimally invasive tissue sampling modalities. *Cancer Cytopathol*. 2016 Dec;124(12):862-870. doi: 10.1002/cncy.21742.
2. Ciliberti V, Maffei E, D'Ardia A, Sabbatino F, Serio B, D'Antonio A, Zeppa P, Caputo A. Combined fine needle aspiration cytology and core needle biopsy in the same setting: A two-years' experience. *Cytopathology*. 2024 Jan;35(1):78-91. doi: 10.1111/cyt.13318. PMID: 37874013.
3. Torres-Rivas HE, Fernández Fernández LM, González Gutiérrez MP, et al. Resident training in interventional pathology: Ultrasound-guided fine-needle aspiration and rapid on-site evaluation—5 years of teaching experience in a single university hospital. *Cytopathology*. 2024 Jan 10. doi: 10.1111/cyt.13355.
4. Sauer T, et al. Ultrasound guidance: A new tool for better FNA practice. *Acta Cytol*. 2018;62(3):201-209. doi: 10.1159/000488700.

5. Rollins K, et al. Ultrasound-guided fine-needle aspiration by cytopathologists: Lessons learned in building a successful program. *Cytopathology*. 2024 Mar;45(2):112-120. doi: 10.1111/cyt.13401.

6. Lieu D. FNA 2.0: Value of cytopathologist-performed ultrasound-guided core-needle biopsy. *Semin Diagn Pathol*. 2022 Nov;39(6):426-435. doi: 10.1053/j.semdp.2022.06.011. PMID: 35752516.

7. Monfore MC, et al. The role of core needle biopsy in head and neck lesions. *Head and Neck Pathology*. 2018;12(4):418-426. doi: 10.1007/s12105-018-0920-6.

8. Strnad BS, Kristeva M, Itani M, Fetzer DT, O'Connor SD, Patel MD, Middleton WD. Percutaneous Core Biopsy Devices: A Detailed Review and Comparison of Different Needle Designs. Ultrasound Q. 2024 Mar 1;40(1):1-19. doi: 10.1097/RUQ.0000000000000664. PMID: 37918119.

9. Villar-Zarra K, Torres-Rivas HE, Guerrero-Fretes N, Olmo-Fernández MDM, Castañeda Vozmediano R, Nieto Llanos S, Nieves-Alonso J. One-Stop Diagnosis in Interventional Pathology: A 7-Year Experience With On-Demand Care for Superficial Nodules. *Cytopathology*. 2025 Feb 27. doi: 10.1111/cyt.13478.

# Recomendaciones del Grupo de Trabajo de Patología Urológica de la SEAP

# Biopsia testicular en infertilidad

**Pilar González-Peramato[1], Beatrice Popescu[2], Manuel Nistal[3]**

1. *Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario La Paz. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid*
2. *Servicio de Anatomía Patológica. Hospital General Universitario de Villalba. Madrid*
3. *Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid*

*1.*

## INTRODUCCIÓN

La infertilidad, definida como la incapacidad de una pareja para concebir naturalmente en 12 meses, está causada en más de la mitad de los casos por un problema en el varón. En los últimos años el tratamiento de la infertilidad masculina ha cambiado drásticamente gracias al desarrollo de las nuevas técnicas de reproducción asistida. Otra parte importante es el mejor conocimiento de la fisiología y patología del testículo. La importancia del diagnóstico histológico de la biopsia testicular es mayor si se tienen en cuenta que no hay ningún dato en la exploración clínica, estudios hormonales, datos del seminograma o estudios de imagen a través de los cuales podamos conocer con certeza lo que ocurre en el interior del testículo. La biopsia testicular en el paciente infértil tendrá más valor cuanto mayor sea la información que proporcione acerca de lo que ocurre en el testículo. Para ello es fundamental que el estudio histológico de la biopsia testicular en el paciente infértil se realice con una metodología apropiada. En este capítulo seguiremos la metodología desarrollada por el grupo del Prof. Nistal.[1-3]

Las causas más frecuentes de la infertilidad masculina incluyen varicocele, obstrucción de la vía espermática, insuficiencia testicular primaria, criptorquidia, exposición a toxinas gonadales, anomalías genéticas, infecciones, disfunción hormonal, afecciones inmunológicas, disfunción eyaculatoria o sexual, cáncer y enfermedades sistémicas. En el 28 % de los hombres infértiles se consideran idiopáticas.[4]

La biopsia testicular diagnóstica en el contexto de infertilidad está indicada en todos los casos de azoospermia obstructiva para confirmar la presencia de espermatozoides si se considera la corrección quirúrgica, excluyendo a los pacientes previamente vasectomizados o con ausencia congénita de deferentes a menos que tengan atrofia testicular o niveles altos de FSH. Está indicada también en la mayoría de los casos de azoospermias secretoras. Ni el pequeño tamaño de los testículos, salvo en casos extremos, ni la elevación de las tasas de FSH tres veces las cifras normales descartan la presencia de espermatogénesis focal. Los espermatozoides y espermátidas contenidos en estas biopsias testiculares pueden ser extraídos para ser utilizados en las técnicas de fertilización asistida. Con respecto a los pacientes oligozoospérmicos, en los que la utilidad de la biopsia siempre se ha considerado mínima, el estudio sistemático semicuantitativo y cualitativo y curvas de correlación espermática, han permitido conocer, que un número muy importante de los bajos recuentos de espermatozoides, se deben a una obstrucción parcial de la vía espermática, y no a un defecto de proliferación de las células germinales. Finalmente, la biopsia diagnóstica está también indicada si hay sospecha clínica de neoplasia de células germinales in situ (GNIS) que es más frecuente en pacientes infértiles, particularmente en pacientes con testículos pequeños y microlitiasis, historia de criptorquidia o tumor testicular de células germinales contralateral.[5]

En la correlación clínico-patológica es importante el conocimiento de datos clínicos como los datos del seminograma, cifras de FSH y LH, cariotipo, presencia de microdeleciones del cromosoma Y alteraciones en el gen de la fibrosis quística.

En resumen, el estudio histológico de la biopsia testicular en infertilidad aporta no solo un diagnóstico de la naturaleza de la infertilidad obstructiva o secretora debida a un fallo primario de la espermatogénesis, sino también proporciona una orientación pronóstica en relación con la progresividad o reversibilidad de las lesiones y una orientación terapéutica.

### Manejo de la muestra de biopsia testicular

Para una interpretación óptima de la biopsia testicular la obtención de la muestra debe ser muy cuidadosa, con la menor manipulación posible en el quirófano. La muestra se tomará de la zona más alejada de la rete testis a través de una incisión en la albugínea de 4-5mm que ocasionará una herniación del parénquima testicular que se seccionará cuidadosamente dejándolo caer al envase sin tracción de la pulpa testicular ya que la tracción artefactará el parénquima testicular dificultando su valoración. El tamaño será aproximadamente de 3 mm de diámetro. Es recomendable que la muestra sea bilateral, ya que se estima que en el 28 % de los casos las lesiones son diferentes entre ambos testículos por su causa o por su grado de progresividad. Esto es especialmente importante en casos de reproducción asistida para determinar si en uno de los dos testículos hay un mayor porcentaje de espermatogénesis completa que en el otro. La muestra debe ser fijada en líquido de Bouin durante 24 horas o en solución de Stieve tal como recomienda la European Germ Cell Cancer Consensus Group.[6] Ambos fijadores mantendrán la morfología de las células germinales mucho mejor que el formol para su evaluación tanto cuantitativa como cualitativa. La fijación en formol no está recomendada ya que produce artefacto de retracción y dificulta mucho la valoración de los detalles morfológicos para una correcta evaluación de las lesiones.[2] Después de su inclusión en parafina se realizarán cortes seriados de 5 micras que se teñirán con HE, tricrómico de Masson que permitirá una mejor evaluación de tubos hialinizados y con orceina para valoración de fibras elásticas. En muy contadas ocasiones será necesario estudio inmunohistoquímico para excluir la presencia de neoplasia de células germinales in situ (GCNIS) con marcadores como OCT3/4, D2-40, c-kit o fosfatasa alcanina placentaria.

## ESTUDIO HISTOLÓGICO DE LA BIOPSIA TESTICULAR

El estudio histológico de la biopsia testicular puede hacerse de forma simple tal como el sistema de score de Johnsen o simplemente determinando si hay o no espermatogénesis[7] o de una forma más detallada que proporcione la máxima información de las causas de la infertilidad. Un estudio detallado consta de varias partes. En primer lugar, se realizará un estudio cuantitativo del número de las diferentes células germinales por sección tubular transversal que permitirá detectar las células germinales afectadas al comparar con los valores normales. En segundo lugar, se realizará una valoración cualitativa del parénquima testicular que proporciona datos adicionales de un tipo particular de célula germinal o de célula de Sertoli. En tercer lugar, se realizará una correlación entre las espermátidas adultas con el número de espermatozoides de eyaculado a través de una curva de potencias lo que permitirá determinar la permeabilidad de la vía espermática.[2]

### Estudio cuantitativo

El método de estudio cuantitativo desarrollado por Nistal et al proporciona información del número de cada tipo de célula germinal y las proporciones entre ellas permitiendo una exploración funcional de la espermatogénesis y su asociación con lesiones de las células de Sertoli y del intersticio.[3] El estudio cuantitativo se realizará en 10-20 tubos seminíferos seccionados transversalmente contabilizando el número de espermatogonias, espermatocitos I, espermátidas jóvenes (de núcleo redondo o Sa+Sb),

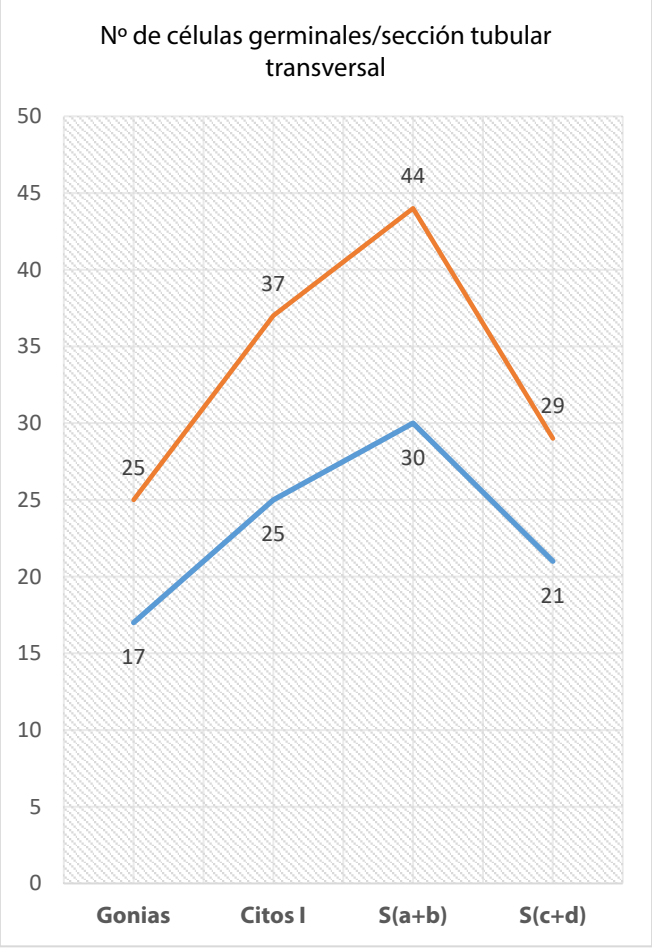
espermátidas adultas o maduras (de núcleo alargado o Sc+Sd) y de células de Sertoli que se encuentran en un plano de foco. Se medirá en diámetro tubular medio de estos tubos seminíferos.

Los valores normales de la cuantificación de los anteriores parámetros se recogen en la Tabla 1. Es de utilidad para interpretación de las lesiones trasladar estos datos a un eje cartesiano que se recoge en la Figura 1.

**Tabla 1.** Valores normales de parámetros cuantitativos evaluados en biopsia testicular

| |
|---|
| **TUBO SEMINÍFERO** |
| Diámetro tubular medio: 180-200 µ |
| N.º de espermatogonias: 21 ± 4 |
| N.º de espermatocitos I: 31 ± 6 |
| N.º de espermátidas jóvenes (Sabe): 37 ± 7 |
| N.º de espermátidas adultas (SCSI): 25 ± 4 |
| M.ª de células de Sertoli: 10 ± 2 |
| **INTERSTICIO TESTICULAR** |
| N.º de grupos de células de Leydig/tubo: 1,2 ± 0,3 |
| N.º de células de Leydig /tubo: 5 ± 0,2 |

**Figura 1.** Valores normales de células germinales por sección tubular transversal en eje cartesiano




La línea roja representa valores máximos y la línea azul los valores mínimos.

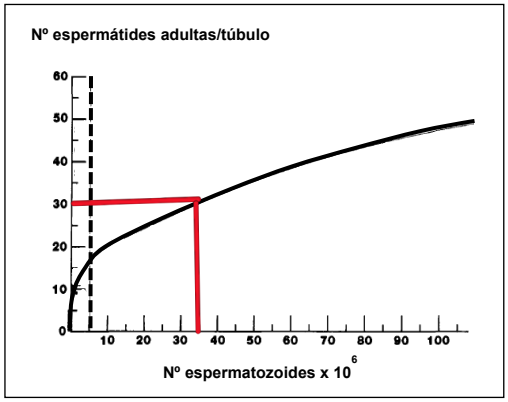
**Estudio cualitativo**

La valoración cualitativa del parénquima testicular comenzará con una observación de la muestra a pequeño aumento para determinar si la patología es difusa o focal. Se evaluarán los tubos seminíferos, precisando el porcentaje de tubos con espermatogénesis o si existen, con sólo células de Sertoli o hialinizados. En esta evaluación son de utilidad las técnicas de Masson y de orceína que permitan una mejor detección de tubos completamente hialinizados y tubos de mejor tamaño o con disminución o ausencia de fibras elásticas. Se tomará nota de la presencia de divertículos en la pared tubular, de la maduración de las células de Sertoli y de las anomalías morfológicas en las células germinales. En intersticio se evaluarán las células de Leydig en su morfología y en el número de grupos por sección tubular. Se valorará la presencia de infiltrado inflamatorios linfocitarios y la presencia de alteraciones vasculares.

**Correlación entre número de espermátidas adultas/tubo y número de espermatozoides esperados en el seminograma**

El diseño de curvas de correlación espermática ha determinado un importante avance en el diagnóstico de las oligozoospermias.[8,9] Una vez realizado el estudio cuantitativo de las diferentes células germinales esta correlación se realizará trasladando los valores de la media del número espermátidas adultas por sección tubular transversal de todos los tubos cuantificados a una curva de potencias tal como se señala en la Figura 2. Si la muestra es bilateral se tendrá en cuenta la media de la cifra de ambos testículos. Con ello se obtendrá el número esperado de espermatozoides en el seminograma. De esta forma se ha podido conocer el alto porcentaje de pacientes cuya oligozoospermia es obstructiva.[10]

**Figura 2.** Curva de potencias correlación espermátidas adultas / espermatozoides en seminograma



## PATRONES LESIONALES BÁSICOS

En las biopsias testiculares de infertilidad podemos observar los siguientes cuatro patrones lesionales básicos:

1. Síndromes de sólo células de Sertoli
2. Lesiones difusas de la espermatogénesis
3. Atrofia mixta
4. Hialinización tubular

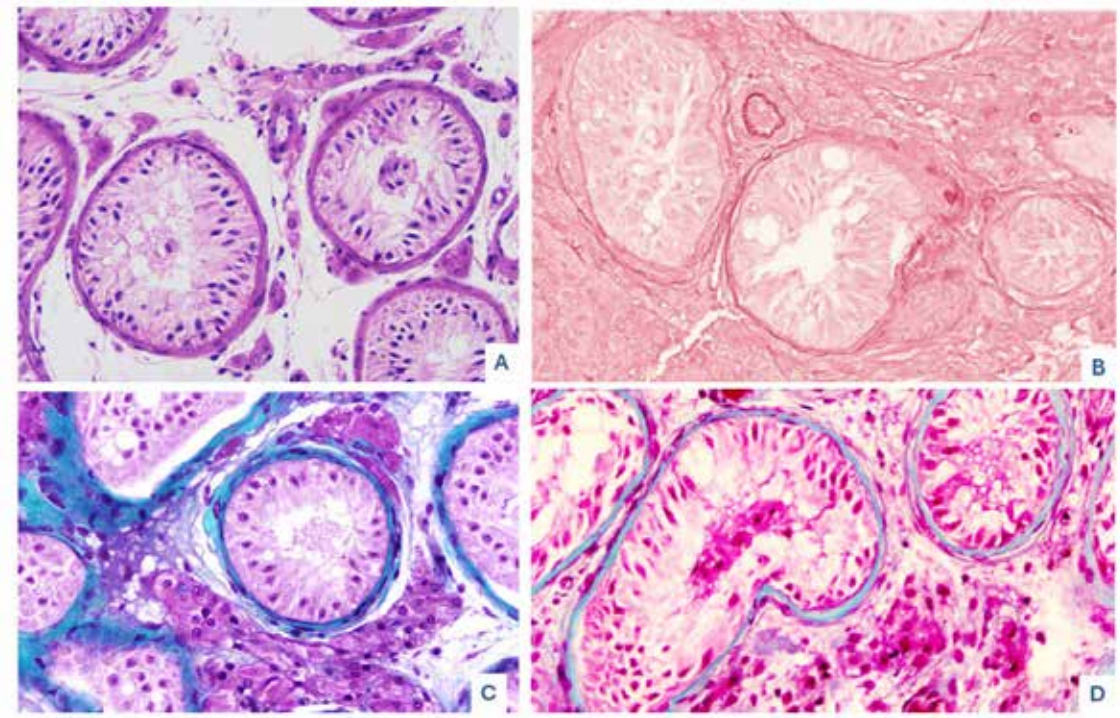
Diferenciar si una azoospermia u oligozoospermia es obstructiva o no obstructiva (secretora) es de gran importancia porque su etiología, pronóstico y tratamiento es diferente. Las azoospermias no obstructivas pueden deberse a anomalías en las células germinales-condiciones no tratables- o a alteraciones en el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal-situaciones tratables con gonadotropinas- mientras que en las azoospermias causadas por obstrucción en algún punto de la vía excretora la espermatogénesis está preservada, y tanto los procedimientos de cirugía reconstructiva como los recuperación de esperma suelen tener mucho éxito en pacientes con azoospermia obstructiva.[11] El volumen testicular, y los valores de FSH e inhibina pueden ser normales en pacientes con azoospermia no obstructiva, por ello solo el tipo de lesión testicular observada en la biopsia nos permite diferenciar definitivamente lesiones primarias de lesiones secundarias. La azoospermia obstructiva representa el 40 % de los casos de azoospermia. Las lesiones de azoospermia obstructiva son secundarias a la obstrucción física de los conductos espermáticos, desde la rete testis hasta los conductos eyaculadores. El aumento de la presión hidrostática intratubular provoca lesiones que se caracterizan por la variabilidad con la que se ven afectados los túbulos seminíferos. Cuando no se realizan estudios cuantitativos del epitelio seminífero, la sola evaluación de las imágenes de unos pocos tubos seminíferos puede ser la causa de la interpretación errónea de lesiones que no pocas veces se confunden con lesiones primarias, lo que naturalmente da a las lesiones un pronóstico diferente. La incidencia de azoospermia de causa de no obstructiva se estima en un 60 %, de ellos un 20 % se deben a anomalías cromosómicas detectables, y el restante 80 % se consideran idiopáticos. La mayoría de los síndromes de solo células de Sertoli, las hialinizaciones difusas de los tubos seminíferos, las atrofias mixtas y las paradas en la maduración en espermatogonias son lesiones primarias no obstructivas mientras que la mayoría de los testículos con lesiones difusas del compartimento adluminal son secundarias a obstrucción de las vías espermáticas. La biopsia testicular proporcional las claves para diferenciar las lesiones primarias de las secundarias a obstrucción.[12]

## SÍNDROMES DE SOLO CÉLULAS DE SERTOLI

El síndrome de células de Sertoli incluye todas aquellas azoospermias en las que los tubos seminíferos solo muestran células de Sertoli. Representan el 13 % de los pacientes que consultan por azoospermia. La presencia de células de Sertoli maduras y funcionalmente activas es un requisito básico para la supervivencia de las células de germinales. Para una adecuada interpretación de este síndrome es necesario conocer los cambios morfológicos y funcionales de las células de Sertoli durante la maduración puberal. En la infancia las células de Sertoli se disponen pseudoestratificadamente, tienen el núcleo oscuro, pequeño redondo o elongado de bordes netos y uno o dos nucléolos periféricos. El citoplasma apical tiene cuerpos de inhibina.[13] Las células de Sertoli adultas después de la maduración puberal tienen un citoplasma pálido y un núcleo triangular con contornos irregulares con una indentación y un nucléolo grande y central. El aumento en longitud y diámetro de los tubos seminíferos en la pubertad condiciona que en el adulto las células de Sertoli se dispongan en una sola capa.

Se distinguen cinco variantes de síndrome de solo células de Sertoli atendiendo a la morfología de las células de Sertoli, al grado de desarrollo de los tubos seminíferos y la presencia de lesiones intersticiales.[14] Estas variantes se designan según el tipo de células de Sertoli que predomine: inmaduras, disgenéticas, adultas o maduras, involutivas o atróficas y desdiferenciadas. Las variantes más frecuentes en pacientes infértiles son células de Sertoli disgenéticas, adultas e involutivas (Figura 3).

**Figura 3.** Hallazgos morfológicos en síndromes de solo células de Sertoli. A. Células de Sertoli disgenéticas de núcleo alargado. Tubos seminíferos de pequeño diámetro sin apenas luz tubular B. Tubos seminíferos disgenéticos sin fibras elásticas (comparación con positividad en elástica de arteriola). Técnica de orceina. C. Tubos seminíferos de pequeño tamaño con solo células de Sertoli de núcleo adulto, triangular con escotadura y nucléolo central. Tricrómico de Masson D. Tubos seminífero con solo células de Sertoli de núcleo involutivo, picnótico, con nucleolo único. Tricrómico de Masson




Las manifestaciones clínicas en estas variantes son similares, incluyendo genitales externos normales, características sexuales secundarias bien desarrolladas, azoospermia, niveles serológicos elevados de FSH, niveles de LH normales o ligeramente elevados y niveles de testosterona normales o ligeramente disminuidos. Los siguientes genes se consideran biomarcadores potenciales del síndrome de sólo células de Sertoli: CCNA2, CCNB2, TOP2A, CDC20, BUB1 y BUB1B.[15]

La mayoría de estos pacientes presentan azoospermia, aunque existe un pequeño grupo de pacientes que muestran en la biopsia testicular solo células de Sertoli disgenéticas o adultas y que presentan espermatozoides en el eyaculado. Esta discrepancia entre la biopsia testicular y el seminograma se debe a la presencia en el testículo de tubos con espermatogénesis, cuadro denominado atrofia mixta, y por tanto la biopsia testicular no es completamente representativa de la patología testicular.

**Síndrome de solo células de Sertoli disgenéticas**

Se consideran células de Sertoli disgenéticas aquellas que presentan un cierto grado de maduración, pero que no alcanzan el desarrollo completo normal de la célula de Sertoli puberal o adulta. Se distinguen básicamente dos tipos de tubos con solo células de Sertoli disgenéticas. Predominan las células de Sertoli con núcleos de tamaño grande, cromatina laxa y nucléolo central semejante al de la célula de Sertoli adulta, pero con la diferencia de que muestran signos de inmadurez como membrana nuclear sin escotadura, forma es esférica u ovoidea en lugar de triangular y con pequeños agregados de heterocromatina irregularmente dispersos. Junto a ellas o en tubos contiguos se pueden observar otras células de Sertoli de núcleo alargado con nucléolo bien desarrollado y granulaciones de heterocromatina.[16,17] Otro signo de inmadurez es que la mayoría de los tubos con células de Sertoli

disgenéticas carecen de luz o esta es muy pequeña, dado que las células de Sertoli disgenéticas tienen escasa capacidad de producir fluido testicular. El diámetro tubular medio es inferior a 120 micras. El número de células de Sertoli por sección tubular transversal es muy alto. La pared tubular muestra disminución de fibras elásticas18 y la pared tubular muestra grados variables de hialinización de la membrana basal. Esas células de Sertoli inmaduras expresan inmunohistoquímicamente citoqueratina 18 y hormona antimülleriana, expresión que normalmente desaparece después de la pubertad.

En el intersticio el número de células de Leydig puede ser normal, disminuido o pseudo hiperplásico. Morfológicamente pueden ser normales o tener pleomorfismo, vacuolización citoplasmática con alto número de inclusiones paracristalinas.

Este síndrome de solo células de Sertoli disgenéticas se observa en testículos de pacientes infértiles con antecedentes de criptorquidia independientemente de si fueron descendidos o no en la infancia, en la periferia de tumores de células germinales, en pacientes con anomalías estructurales del cromosoma y en ciertas anomalías cromosómicas tales como 46,XX y 48,XYYY, deleciones del cromosoma Y en pacientes con infertilidad idiopática.[2] Salvo en el caso de la criptorquidia, en el resto de las situaciones las lesiones son bilaterales.

**Síndrome de solo células de Sertoli maduras**

En este síndrome los tubos seminíferos están revestidos de células de Sertoli con morfología nuclear semejante a la de la célula adulta normal, con la diferencia de que se encuentran en mayor número por sección tubular transversal (14 ±0,8). Con frecuencia el citoplasma de las células de Sertoli presenta abundantes vacuolas, la mayoría en continuidad con la luz del tubo seminífero. Los tubos tienen un diámetro ligeramente disminuido, pero presentan luz central evidente. La túnica propia es normal o ligeramente engrosada. Las células de Leydig son normales. Con frecuencia las lesiones son bilaterales.

Este síndrome esta probablemente causado por la ausencia de emigración de las células germinales desde la pared del saco vitelino a las crestas genitales. Este fallo puede relacionado con deleción del factor AZFa en la región 11q del cromosoma Y[19] por mutación en los genes que codifican KIT o su ligando stem cell factor (SCF) responsable de la migración, proliferación y supervivencia de las células germinales o por mutaciones del gen PLK4.[20]

**Síndrome de solo células de Sertoli involutivas o atróficas**

Este síndrome se presenta en testículos que durante cierto tiempo han tenido línea germinal pero que han sufrido una involución que afecta no solo a las células germinales sino también a las células de Sertoli. Las células de Sertoli tienen cambios nucleares y citoplasmáticos irreversibles. Los núcleos de las células de Sertoli en lugar del núcleo triangular normal de la célula adulta tienen formas lobuladas con contornos muy irregulares, con múltiples y profundos pliegues, gruesos gránulos de cromatina y nucléolo poco evidente. Con frecuencia puede haber núcleos retraídos e hipercromáticos. El citoplasma basal puede ser eosinófilo. El número de células de Sertoli por sección tubular transversal no está aumentado.[2]

Los tubos seminíferos a pesar de tener un diámetro disminuido conservan la luz tubular. La pared tubular tiene grados variables de engrosamiento de la túnica propia y persistencia de fibras elásticas. Las células de Leydig muestran también variable grado de involución con hipercromatismo y retracción nuclear y citoplasmática con aumento de lipofuscinas.

Este síndrome puede ser un trastorno primario o secundario a múltiples causas tales como irradiación o tratamientos con quimioterapia, corticoides o tratamientos de síndromes nefróticos. Es difícil determinar la causa en el estudio histológico, aunque algunos cambios pueden orientar a la etiología. Los cambios en la pared tubular son más pronunciados en pacientes tratados con altas dosis de ciclofosfamida o combinación de radio y quimioterapia. En pacientes tratados con cisplatino, o

ciclofosfamida el intersticio puede mostrar fibrosis. En algunos casos los tubos seminíferos muestran disminución de fibras elásticas y células de Sertoli disgenéticas en el mismo tubo, lo que sería expresión de una anomalía primaria testicular y la involución probable consecuencia de un envejecimiento precoz de las células de Sertoli.

**Síndrome de solo células de Sertoli inmaduras**

Las células de Sertoli en un testículo adulto en esta variante adoptan un patrón madurativo prepuberal con pseudo estratificación y elevado número por sección tubular transversal. Los núcleos son como los de un testículo infantil ovalados o alargados, de pequeño tamaño, hipercromáticos y sin nucléolo. La lámina propia está poco desarrollada y carece de fibras elásticas. El diámetro tubular medio es pequeño (menos de 80 micras) y los tubos carecen de luz central. El intersticio carece de células de Leydig adultas. Las lesiones son bilaterales.

Es poco frecuente observarlo en pacientes infértiles. Se debe a un déficit combinado de FSH y LH en la infancia que impide la adecuada maduración de las células de Sertoli, de la pared tubular y del intersticio. Las células germinales terminan desapareciendo. Si estos pacientes han sido sometidos a tratamiento hormonal la membrana basal de los tubos seminíferos sufre engrosamiento o hialinización. Los tubos seminíferos de esta variante son semejantes a los observados en pacientes con síndrome de insensibilidad a andrógenos completa (CAIS) pero la diferencia estriba en que en el CAIS las células de Sertoli no expresan receptores de andrógenos, el intersticio muestra abundantes células de Leydig y de células fusiformes semejantes al estroma ovárico.[21]

**Síndrome de solo células de Sertoli desdiferenciadas**

La característica más llamativa de estos testículos es la presencia de tubos seminíferos que han experimentado una maduración puberal y que sin embargo contiene células de Sertoli que recuerdan a las células de Sertoli de la infancia o de las primeras etapas de la pubertad con núcleo redondos u elongados. El citoplasma apical de las células de Sertoli contiene numerosas vacuolas de pequeño tamaño. El diámetro tubular está muy disminuido (menos de 90 micras), la pared tubular está engrosada con abundantes fibras de colágeno, aunque conservando las fibras elásticas y la lámina basal está engrosada. El intersticio contiene pocas células de Leydig que también aparecen desdiferenciadas con abundantes lipofuscinas o incluso pueden llegar a desparecer.

Esta variante se puede observar en pacientes infértiles en casos de tratamientos previos con cisplatinos. Otras situaciones fuera de la infertilidad son aquellas con tratamientos con estrógenos y antiandrógenos en el contexto de transexualidad.[22]

**HIALINIZACIÓN TUBULAR**

La hialinización de los tubos seminíferos es la fase final de la atrofia tubular que incluye tanto la desaparición de las células germinales y de las células de Sertoli con alteraciones en la lámina propia y en las células de Leydig. En consecuencia, los testículos son de pequeño tamaño. Esta histología de hialinización tubular difusa se observa en un pequeño porcentaje (8 %) de pacientes azoospermicos, dado que en la mayoría de los casos se llega a un diagnóstico por la clínica, los estudios hormonales y métodos citogenéticos.

La etiología de la hialinización tubular puede precisarse teniendo en cuenta una serie de detalles morfológicos y algunos datos clínicos. Entre los detalles morfológicos se atenderá a unos datos generales como extensión y topografía de los tubos hialinizados y presencia de tubos aislados con línea germinal o con solo células de Sertoli junto a unos datos específicos tales como diámetro tubular medio, trofismo de las células peritubulares, presencia o ausencia de fibras elásticas y grado de colagenización de la túnica propia. En el intersticio se valorará el número y morfología de las células de Leydig, la

presencia de infiltrados inflamatorios y si existen las lesiones vasculares. Como dato clínico se tendrá en cuenta si se alcanzó el tamaño testicular normal en la pubertad y si se redujo posteriormente de forma brusca o progresiva.[2]

Las causas más comunes de hialinización tubular son disgenética, por deprivación hormonal, de mecanismo isquémico, postobstructiva, post inflamatoria, secundaria a agentes físicos y químicos y de mecanismo inmunológico.

**Hialinización tubular disgenética**

Es una lesión difusa en la que la mayoría de los tubos están en la misma fase evolutiva. Si están presentes otro tipo de tubos seminíferos suelen ser tubos con solo células de Sertoli disgenéticas y excepcionalmente con espermatogénesis. Los tubos hialinizados además de carecer por completo de epitelio seminífero carecen o muestran marcada disminución de fibras elásticas, y tienen escasas células peritubulares (Figura 4). Las causas más frecuentes en el síndrome de Klinefelter y testículos criptorquídicos que no fueron descendidos antes de la pubertad.

En el síndrome de Klinefelter el intersticio muestra células de Leydig con un patrón pseudoadenomatoso característico. Las células de Leydig no son uniformes pues junto a células de pequeño tamaño se identifican otras células de gran tamaño con incremento de inclusiones paracristalinas y disminución de cristales de Reinke. A pesar del gigantismo celular estas células no secretan tasas normales de testosterona lo que condicional el hipoandrogenismo característico de este síndrome.

En los testículos criptorquídicos no descendidos antes de la pubertad la atrofia tubular se produce de forma progresiva evidenciándose porque los tubos muestran una imagen «en diana» condicionada por la presencia de dos capas de células peritubulares separadas por fibras de colágena y matriz extracelular. Las células de Leydig, aunque en número total están disminuidas, parecen estar aumentadas, se agregan en pequeños nódulos, es frecuente la microvacuolización citoplasmática y el pleomorfismo celular es menor que en el síndrome de Klinefelter. En estos testículos criptorquídicos la atrofia tubular además de un mecanismo disgenético puede tener un mecanismo postobstructivo dadas las frecuentes anomalías en la vía espermática y un mecanismo isquémico sobre todo en testículos que quirúrgicamente no se pudieron descender por completo.[2]

**Hialinización tubular por deprivación hormonal**

El déficit hormonal ocasiona una hialinización tubular difusa. Los túbulos pueden reconocerse como cordones epiteliales rodeados de una pared tubular muy hialinizada en las fases menos evolucionadas. En estos cordones se pueden identificar algunas espermatogonias y aislados espermatocitos I. En fases evolucionadas sólo la presencia de fibras elásticas indica la estructura de un testículo adulto previamente normal. El número de células peritubulares está muy disminuido. Las células de Leydig desaparecen de forma paralela a la involución tubular y las pocas que permanece muestran núcleos picnóticos y citoplasmas retraídos con abundantes lipofuscinas.

Este cuadro se manifiesta clínicamente como un hipogonadismo hipogonodatrópico de comienzo postpuberal causado por lesiones ocupantes de espacio que afecten a la hipófisis o sus proximidades. Fuera de cuadros de infertilidad esta morfología se aprecia en tratamientos prolongados con estrógenos y antiandrógenos.[2]

**Hialinización tubular de mecanismo isquémico**

La isquemia testicular conlleva atrofia de los tubos seminíferos y desaparición de las células de Leydig. Si están presentes algunas células de Leydig éstas muestran núcleos picnóticos y retraídos. La causa más frecuente de infertilidad por este mecanismo es la observada en pacientes que tuvieron

torsión del cordón espermático. Otras causas, infrecuentes en pacientes que consultan por infertilidad, son lesiones iatrogénicas que lesionan la arteria testicular o sus ramas en intervenciones sobre la región inguinal o por afectación vascular por vasculitis.

**Hialinización tubular postobstructiva**

La obstrucción de las vías espermáticas puede determinar atrofia tubular. Para que produzca una hialinización de los tubos seminíferos la obstrucción debe tener lugar muy próxima al testículo, ya que en la cabeza del epidídimo y, concretamente en los conductos eferentes, se reabsorbe el 90 % del fluido testicular protegiendo al testículo de una excesiva presión intratubular. Las lesiones de hialinización tubular de mecanismo obstructivo son frecuentemente focales y múltiples, distribuyéndose de forma parcheada por el testículo con un patrón en mosaico. Junto a tubos completamente hialinizados pueden verse otros con mínimas alteraciones, en fases intermedias o con espermatoceles. El diámetro tubular de estos tubos no es tan pequeño como el de otras causas de hialinización y ocasionalmente contienen células de Sertoli. Con frecuencia en el centro de los tubos hialinizados por mecanismo obstructivo se aprecia una pequeña luz que puede corresponder a la luz tubular primitiva o a una vacuola en citoplasmática de algunas células de Sertoli residual (Figura 4). La túnica propia es gruesa por hipertrofia de células peritubulares o por aumento de material extracelular. El intersticio contiene un número normal de células de Leydig, que a medida que la hialinización progresa pueden adoptar un patrón pseudoangiomatoso.

La hialinización tubular de causa obstructiva es generalmente secundaria a varicocele, en que pueden observarse angiectasias, y otras causas que ocasionen dilatación de los canales de la rete testis. Estos trastornos pueden ser congénitos como la disociación epidídimo – testicular o adquiridos las secundarias atrofia del epidídimo por arteritis, arterioesclerosis o insuficiencia androgénica. En ocasiones se observan en zonas periféricas del testículo en casos de orquitis virales.

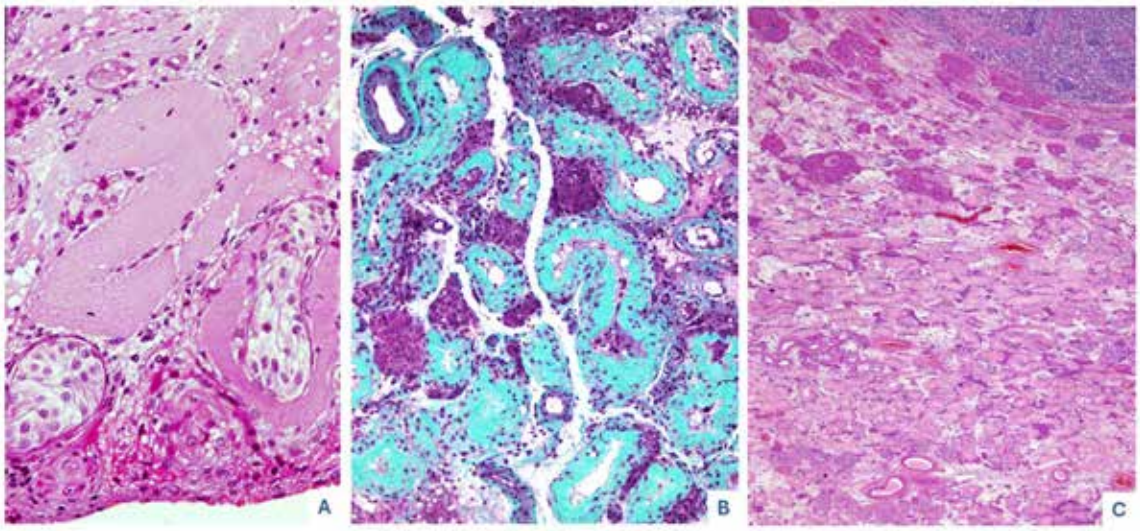
**Hialinización tubular postinflamatoria**

Las dos orquitis más relacionadas con infertilidad son las virales, más concretamente por el virus de las paperas y el vuirus coxackie B. La hialinización tubular secundaria a patología viral es parcheada, alternando tubos seminíferos normales con otros completamente hialinizados en los que solo se reconoce un anillo periférico de células peritubulares alrededor de un material hialino. Estos tubos conservan las fibras elásticas lo que permite diferenciarlos de los tubos hialinizados disgenéticos. Las células de Leydig forman grupos de tamaño variable pero no están aumentadas en número. Una hialinización tubular de mecanismo inmunológico es el observado en la periferia de tumores de células germinales o en tumores de células germinales en regresión (tumores quemados. (Figura 4)

**Hialinización tubular secundaria a agentes físicos y químicos.**

La hialinización tubular es frecuente en pacientes sometidos durante mucho tiempo a quimioterapia y/o radioterapia. Los tubos seminíferos infantiles o prepuberales son muy sensibles al efecto de la radiación. Con H&E los tubos son apenas perceptibles por la hipocelularidad del propio tubo con desaparición de las células del epitelio seminífero y peritubulares como por la colagenización del intersticio. Se añaden lesiones vasculares por acción de la radioterapia que causan lesiones isquémicas.

**Figura 4.** Hialinización tubular. A. Hialinización tubular disgenética con tubos seminíferos completamente hialinizados junto a tubos con solo Sertoli disgenéticos. B. Hialinización tubular de mecanismo obstructivo. Nótese la luz central redondeada en muchos de los tubos seminíferos. Tricrómico de Masson. C. Hialinización tubular en testículo criptorquídico en la periferia de un seminoma.




## ATROFIA MIXTA: LESIONES FOCALES EN LA ESPERMATOGÉNESIS

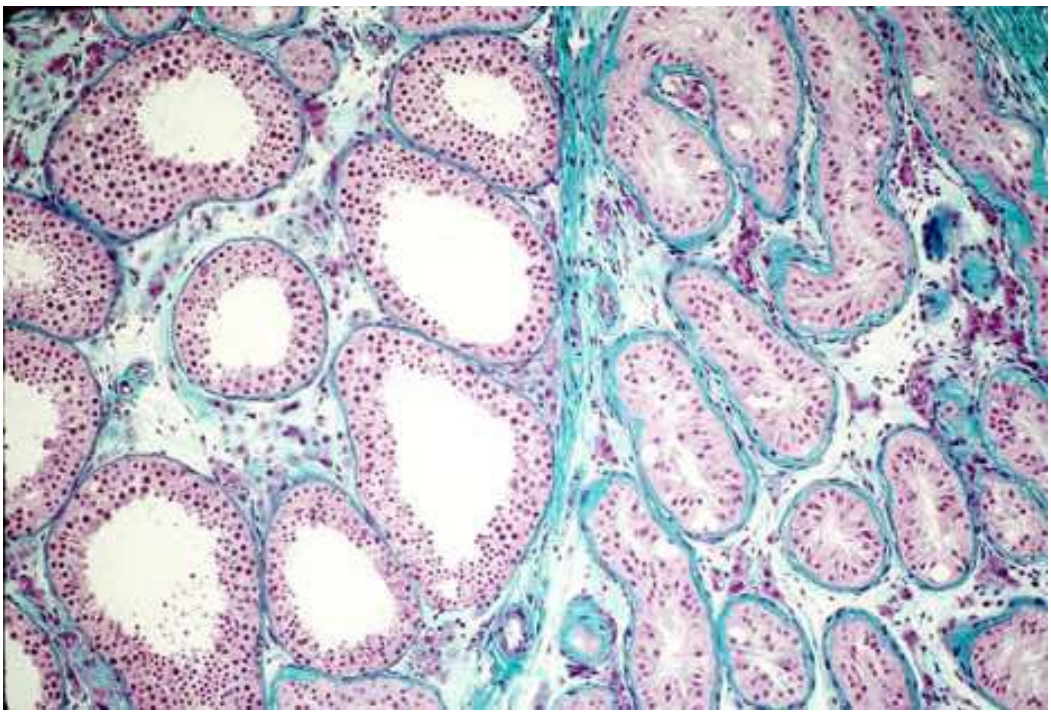
La atrofia mixta es un término descriptivo para la coexistencia, en el mismo testículo, de tubos seminíferos con sólo células de Sertoli y tubos con espermatogénesis completa o incompleta. Los dos tipos de tubos están agrupados de acuerdo con su distribución por lobulillo testicular. (Figura 5) La extensión de los tubos con sólo células de Sertoli puede ser muy variable, desde unos pocos tubos a la mayoría de los tubos en la biopsia. Ocasionalmente, se observa hialinización tubular. Las lesiones pueden ser unilaterales o bilaterales.

En estos casos es importante informar el porcentaje de tubos con espermatogénesis, el grado de desarrollo de la línea germinal en estos tubos (la correlación de estos datos con el seminograma da una indicación del pronóstico) y el tipo de células de Sertoli (identifica la naturaleza, primaria o secundaria, de la lesión).[23]

La atrofia mixta (probablemente primaria) se observa en la infertilidad idiopática, en la criptorquidia incluso adecuadamente corregida en la infancia tanto en el testículo criptorquídico como en el contralateral, la macroorquidia, la torsión intravaginal del cordón espermático y anomalías cromosómicas como síndrome de Down, cariotipo 47XYY, cariotipo 46XX, cromosoma Y gigante, síndrome de Klinefelter con mosaicismo cromosómico, microdeleciones del cromosoma Y.[24] PAIS, alguna submasculinización masculina (DSD) y en el parénquima periférico a un tumor de células germinales.

La atrofia mixta secundaria se puede observar en pacientes con tratamiento quimioterápico, los que reciben glucocorticoides, con historia de orquitis viral o en el parénquima periférico a un tumor de células germinales.

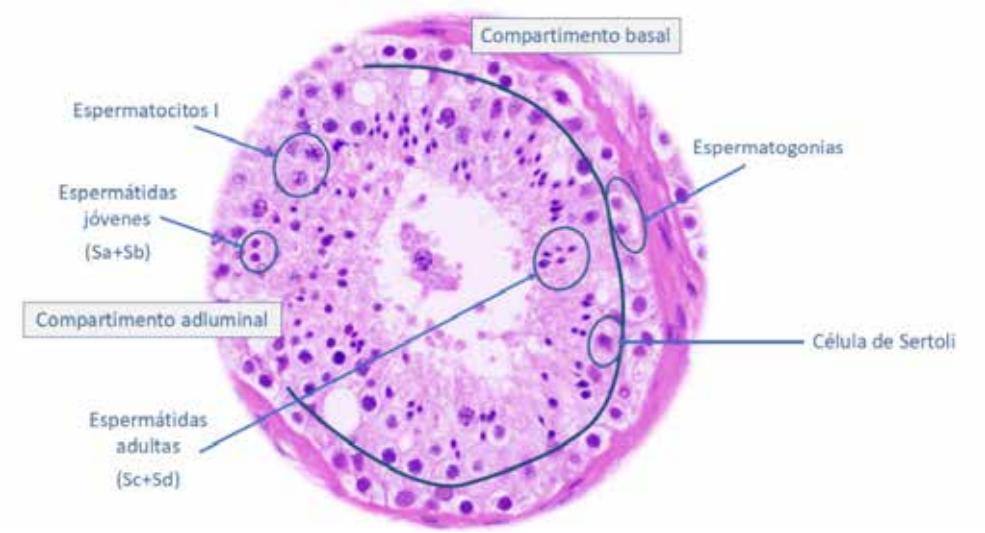
**Figura 5.** Atrofia mixta. En la misma biopsia se aprecian tubos seminíferos con espermatogénesis con ectasia tubular en un lobulillo junto a tubos con tubos con solo células de Sertoli en otro lobulillo adyacente.



## LESIONES DIFUSAS DE LA ESPERMATOGÉNESIS

Desde punto de vista histofisiológico en el tubo seminífero hay dos compartimentos: basal y adluminal. Estos dos compartimentos están separados por la barrera hemato-testicular y tienen requerimientos hormonales y nutricionales distintos. El compartimento basal está formado por las espermatogonias y espermatocito preleptoténico y en el compartimento adluminal los espermatocitos primarios y secundarios, espermátidas jóvenes y espermátidas maduras. (Figura 6) Por este motivo, las lesiones a nivel del tubo seminífero se pueden clasificar en dos grupos: lesiones del compartimento adluminal y lesiones del compartimento basal y adluminal.[2]

**Figura 6.** Compartimentos adluminal y basal del tubo seminífero



**Lesiones del compartimento adluminal de los tubos seminíferos.**

Esta categoría incluye todos aquellos testículos infértiles en los que los tubos seminíferos muestran un número normal de espermatogonias por sección tubular transversal, un número normal o disminuido de espermatocitos y espermátidas jóvenes, y un número variable de espermátidas adultas. Un término descriptivo de estas lesiones sería el de descamación de células germinales inmaduras.

Las lesiones en el compartimento adluminal se clasifican en función del tipo más abundante de célula germinal en la que hay parada en la maduración y por tanto se descama. De menor a mayor gravedad se distinguen:

- Descamación de espermátidas jóvenes
- Descamación tardía de espermatocitos de primer orden
- Descamación precoz de espermatocitos de primer orden

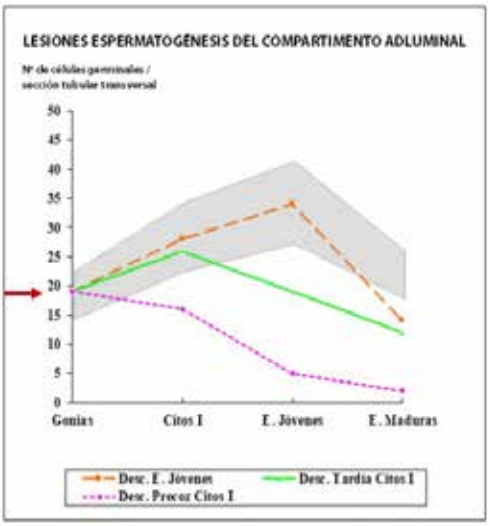
La ***descamación de espermátidas jóvenes*** se reconoce cuando el número de espermátidas alargadas (maduras) es inferior al esperado con respecto a las redondas (jóvenes) según el recuento de las células de la línea germinal. El número de espermatogonias, espermatocitos i y espermátidas jóvenes es normal. La implicación de este patrón es que muchas espermátidas redondas son incapaces de diferenciarse y se descaman.

En la ***descamación tardía de espermatocitos de primer orden*** la espermatogénesis es normal hasta el nivel de los espermatocitos primarios que también están presentes en número normal. Posteriormente, estos espermatocitos degeneran sin llegar a la meiosis y se desprenden hacia la luz tubular. Las espermátidas alargadas y espermátidas redondas están muy reducidos en número. Cuando las biopsias no se fijan correctamente, los túbulos seminíferos adquieren un aspecto de diana, con numerosas células descamadas en la luz.

La ***descamación precoz de espermatocitos de primer orden*** se caracteriza por la presencia de un número normal de espermatogonias y un número disminuido de espermatocitos primarios. Los tubos seminíferos pueden contener unas pocas espermátidas. Las células de Sertoli pueden mostrar vacuolización del citoplasma apical como expresión de la pérdida de células germinales. Esta lesión es más grave que la descamación tardía de espermatocitos primarios ya que probablemente sea el resultado de un fallo de las células de Sertoli para mantener el compartimento adluminal.[2]

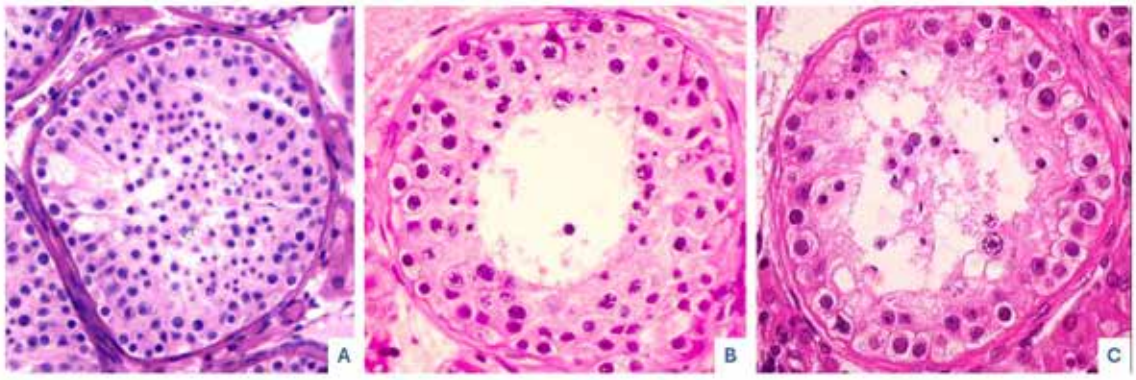
En la Figura 7 se representan gráficamente los recuentos de las células germinales en estas lesiones del compartimento adluminal y en la Figura 8 el aspecto morfológico de los tubos seminíferos en cada una de estas lesiones.

**Figura 7.** Representación de los recuentos de células germinales en las lesiones del compartimento adluminal de los tubos seminíferos.



En todas estas lesiones el número de espermatogonias es superior a 17 por sección tubular transversal.

**Figura 8.** Lesiones del compartimento adluminal e los tubos seminíferos. A. Descamación de espermátidas redondas. B. Descamación tardía de espermatocitos I. C. Descamación precoz de espermatocitos I.




**Etiología**. Los mecanismos patogenéticos de las lesiones del compartimento adluminal se pueden clasificar en: obstructivos y no obstructivos.

## PATRÓN OBSTRUCTIVO

Las lesiones secundarias a patología obstructiva están presentes en más del 70 % de los casos y se caracterizan el denominado «patrón obstructivo» que está definido por una intensidad diferente de las lesiones del epitelio seminífero de un lobulillo a otro, el denominado «patrón en mosaico» y por la presencia de dos o más de los siguientes hallazgos: 1) ectasia tubular con gran variabilidad del diámetro tubular de un lobulillo a otro, aumento del diámetro tubular y de la luz tubular y aumento del número de divertículos; 2) contorno aserrado de la luz tubular proyectándose hacia la luz de forma individualizada cada célula de Sertoli y las células germinales que dependen de ella; 3) intensa vacuolización del polo apical del citoplasma de las células de Sertoli; 4) acumulación de espermátidas adultas en la luz de algunos tubos; 5) un número de espermátidas adultas superior al de espermátidas jóvenes (véase la discusión posterior Correlación entre la biopsia testicular y el espermiograma (azoospermia obstructiva y oligozoospermia).[25] (Figuras 9 y 10); 6) presencia de infiltrados linfoides rodeando a tubos seminíferos atróficos.

**Figura 9.** Hallazgos morfológicos del patrón obstructivo. A. Aumento de diámetro y ectasia de la luz tubular. B. Divertículo de la pared del tubo seminífero (entre flechas) C. Contorno aserrado de la luz tubular. D. Vacuolización del polo apical de las células de Sertoli. E. Acumulación de espermátidas maduras en la luz tubular.

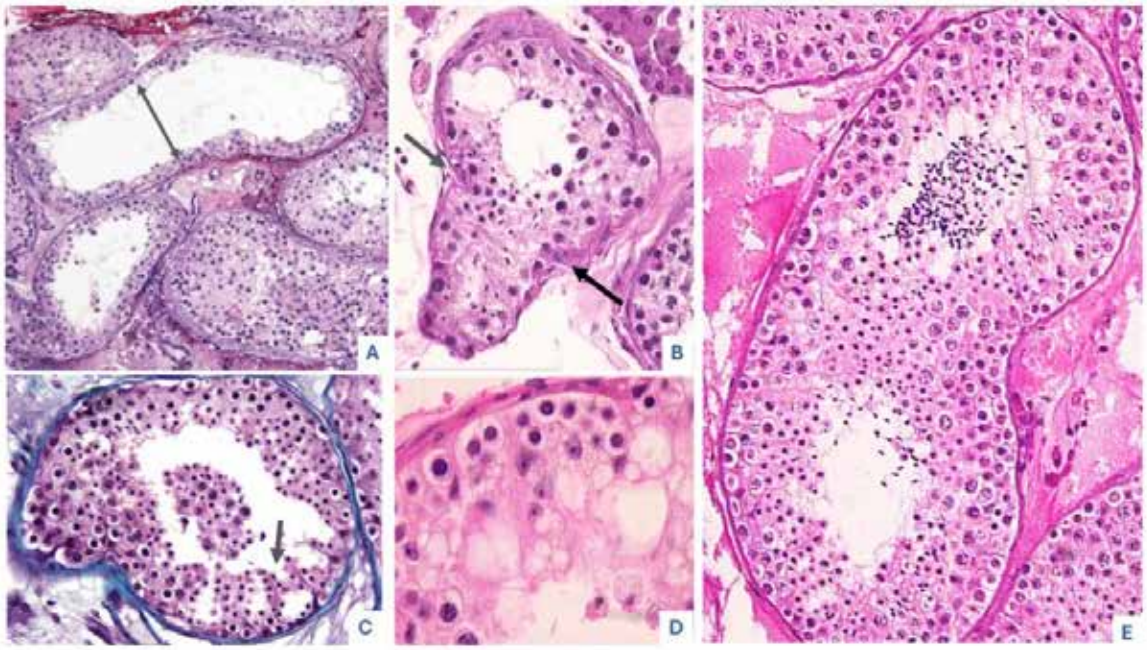
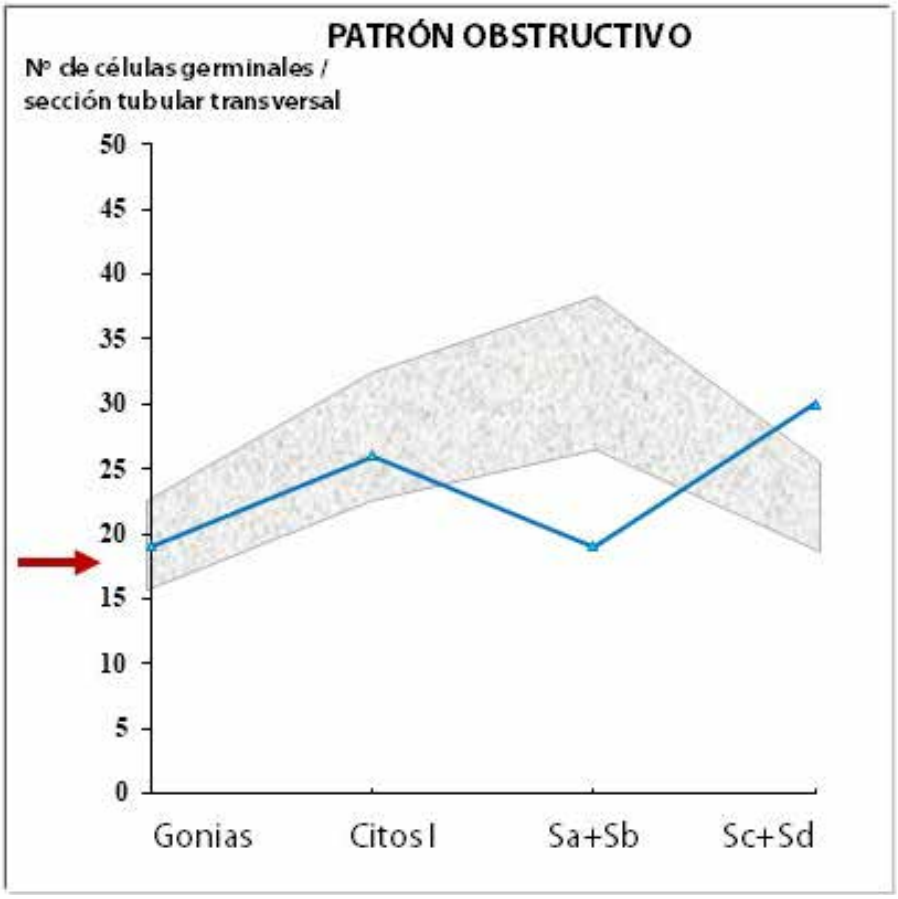



**Figura 10.** Representación de los recuentos de células germinales biopsias de patrón obstructivo. En la gráfica se aprecia el aumento de espermátidas alargadas con respecto a las espermátidas redondas que están disminuidas en número. El número de espermatogonias y de espermatocitos primarios está dentro de los límites normales.



Este patrón obstructivo se puede observar en todas las lesiones del compartimento adluminal y en algunas del compartimento basal. La gravedad de las lesiones se relaciona con la localización de la obstrucción en la vía espermática, si la obstrucción es completa o incompleta, si la obstrucción ocurre en las vías espermáticas extratesticulares o en las intratesticulares, si la obstrucción es de origen congénito o adquirido y con la duración de la obstrucción. Cuanto más cerca esté la obstrucción del testículo y mayor sea su duración, mayor será la gravedad.

*Obstrucciones extratesticulares*: Pueden clasificarse en proximales, distales o mixtas teniendo en cuenta la proximidad al testículo. Las obstrucciones proximales se producen en cualquier segmento de la vía espermática entre la rete testis y la ampolla del deferente inclusive. En las obstrucciones distales el bloqueo se produce entre la ampolla del deferente y el orificio en la uretra, incluyendo la obstrucción de los eyaculadores. En las obstrucciones proximales se pueden apreciar la mayoría de las lesiones antes descritas mientras que en las distales los hallazgos más frecuentes son la ectasia tubular difusa y el aumento del diámetro tubular medio. La obstrucción proximal de las vías espermáticas determina un aumento de presión hidrostática que condiciona ectasia de la rete testis, ectasia tubular con aumento de presión intraluminal que lesiona selectivamente el citoplasma apical de las células de Sertoli alterándose los mecanismos de adhesión celular entre células de Sertoli y las células germinales que finalmente determina la descamación de las células germinales inmaduras del compartimento adluminal.[26]

Las causas más frecuentes de obstrucción extratesticular son vasectomía, inflamaciones (epididimitis o prostatitis), mucoviscidosis (ausencia congénita bilateral del conducto deferente) y disociación epidídimo-testicular. En la ausencia bilateral congénita del conducto deferente (ABCCD) (con o sin fibrosis quística) se ha observado que el aumento de la presión hidrostática se tolera bien. Estudios cuantitativos de biopsias testiculares han demostrado que el 43 % tienen un recuento normal de células germinales. El 21 % de los testículos presentan descamación tardía de espermatocitos primarios. Esta lesión puede estar relacionada con el hecho de que varios pacientes asocian una agenesia parcial del cuerpo y de la cola del epidídimo con la ABCCD. El 32 % de los testículos presentan lesiones en los dos compartimentos, basal y adluminal con hipospermatogénesis leve y descamación de espermatocitos primarios asociada a hipospermatogénesis. En los casos restantes existen diferentes patologías asociadas como hialinización tubular, tubos con sólo células de Sertoli y parada en la maduración. En pacientes vasectomizados el 29 % tienen recuentos normales y el 71 % descamación de espermatocitos primarios.[25] En estos pacientes las lesiones inicialmente son escasas, pero a medida que pasa el tiempo, las probabilidades de tener un análisis de semen normal cuando se realiza la reanastomosis disminuyen considerablemente.

*Obstrucciones intratesticulares*: Son aquellas que se localizan en la rete testis o en los propios tubos seminíferos. *La obstrucción de la rete testis* afecta típicamente a pacientes jóvenes con varicocele que está presente en un 30-40 % de pacientes infértiles frente al 15 % en la población general. En las biopsias testiculares de pacientes con varicocele además de lesiones tubulares con un patrón «en mosaico» pueden verse angiectasias consistentes en dilatación de la luz de las venas con fibrosis excéntrica de la pared. Las paredes de las venas, en los testículos normales, son delgadas y las luces están casi colapsadas. Los pacientes con varicocele también suelen tener espermatozoides con cabezas característicamente alargadas con bases delgadas. Inicialmente, las lesiones se observan en el testículo ipsilateral al varicocele, pero con el tiempo ambos testículos se ven afectados. La presión elevada en el plexo pampiniforme se transmite a las venas dentro de los testículos, principalmente a las venas centrípetas que cruzan el mediastino testicular y drenan la mayor parte del parénquima testicular.[27,28] Las venas centrípetas dilatadas comprimen los conductos excretores intratesticulares de los espermatozoides, hallazgo que explica la distribución en mosaico de las lesiones tubulares.[29]

La *obstrucción de los tubos seminíferos* puede ser congénito (disgenético) o adquirido postorquítico secundarios a parotiditis o epididimitis. La obstrucción de causa disgenética presenta una distribución en mosaico de las lesiones y túbulos seminíferos con diámetros pequeños, lámina propia engrosada y tubos seminíferos tapizados por células de Sertoli cuboidales y espermatozoides que obstruyen la luz. El diagnóstico se confirma si el estudio de secciones seriadas demuestra continuidad entre los túbulos

alterados y aquellos túbulos con espermatogénesis conservada. Esta estenosis tubular parece ser el resultado de una anomalía primaria de las células de Sertoli y las células peritubulares. La obstrucción postorquítica debe sospecharse en los casos de atrofia tubular con un patrón en mosaico sin túbulos disgenéticos o varicocele. Algunos pacientes tienen antecedentes de orquitis asociada a parotiditis, mientras que en otros los únicos hallazgos son oligozoospermia y testículos pequeños. La biopsia con toma de muestras de la periferia revela las consecuencias de la obstrucción, similares a las lesiones observadas en el varicocele. Sin embargo, también deben estar presentes algunos cambios postinflamatorios, como túbulos hialinizados, túbulos dilatados revestidos por células de Sertoli cuboidales o espermatogénesis completa. Ocasionalmente, se observa una modesta inflamación perivascular o peritubular y angiectasia.[30] Un cuadro característico de obstrucción focal de algunos tubos seminíferos con muy marcada dilatación del tubo es la relacionada con microlitiasis.

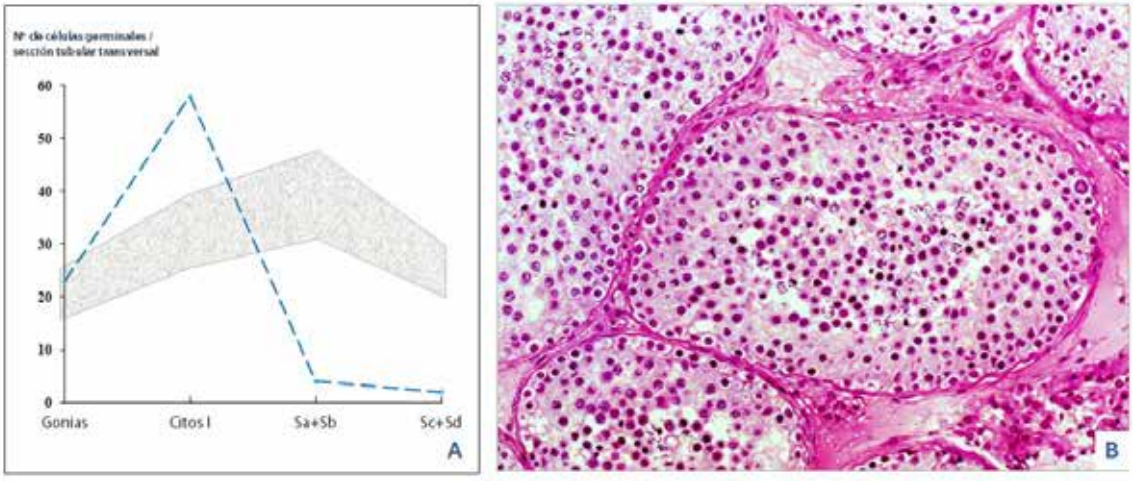
Las lesiones del compartimento adluminal **no obstructivas** representan 30 % y la mayoría de los testículos presentan anomalías primarias de las células germinales. Morfológicamente, se pueden observar los siguientes hallazgos: 1) una disminución marcada del tipo de célula germinal cuando el tipo precedente está muy aumentado en número; 2) la correlación normal entre el número de espermátidas maduras en la biopsia y el número de espermatozoides en el seminograma; 3) la presencia de numerosas malformaciones en las células germinales del compartimento adluminal.

La disminución del número de células germinales puede ser tan importante que dé lugar a una parada madurativa de la espermatogénesis, con la consiguiente azoospermia u oligozoospermia si la parada en la maduración es parcial. Esta detención de la maduración se observa principalmente en espermatocitos primarios y espermátidas jóvenes.

*Parada en la maduración en espermatocitos*

La descamación de espermatocitos I puede ser consecuencia de anomalías en la meiosis.[31] Esta anomalía en la meiosis puede sugerirse simplemente por el patrón histológico cuando la detención de la maduración se produce en los espermatocitos preleptotenos y leptotenos, lo que es infrecuente, o en los espermatocitos paquitenos, lo que es mucho más frecuente. La lesión es bilateral. La anomalía en la meiosis determina dos hechos, la práctica ausencia de espermátidas y una gran acumulación de espermatocitos de primer orden en los túbulos seminíferos Los espermatocitos con anomalía en la meiosis son grandes y después degeneran. (Figura 11)

**Figura 11.** Anomalías en la meiosis. A. Representación de los recuentos de células germinales biopsias con anomalía de la meiosis evidenciando un elevado número de espermatocitos primarios con una disminución muy marcada de espermátidas jóvenes y adultas. B. Tubo seminífero en el que se identifican espermatogonias y una alta densidad de espermatocitos primarios con ausencia de células germinales maduras.



Se ha descrito en asociación con trisomías, microdeleciones del cromosoma Y y anomalías autosómicas equilibradas. En pacientes con constituciones cromosómicas anormales puede afectar a algunos espermatocitos y no a otros, produciendo un mayor número de espermátidas.[32] En los pacientes con parada en la maduración en espermatocitos en los que el número de espermatocitos no está aumentado, la etiología puede ser de naturaleza obstructiva. Cuando estas dos situaciones no se separan, como ocurre en la mayoría de las series, no se evalúa adecuadamente el mal pronóstico de la anomalía de la meiosis. La detención meiótica se ha relacionado con la falta de expresión de varios genes.

*Parada en la maduración en espermátidas*

Las anomalías meióticas dan lugar a la aparición de muchas espermátidas jóvenes multinucleadas, poliploides e hipercromáticas. En la espermiogénesis defectuosa, las espermátidas jóvenes son incapaces de transformarse en espermátidas maduras, y en el eyaculado sólo aparecen espermátidas redondas.

La ausencia de espermátidas adultas en relación con un número normal de espermátidas redondas es rara. El desprendimiento de espermátidas jóvenes no asociado a obstrucción puede ser el resultado de anomalías meióticas o de una espermiogénesis defectuosa.

Los testículos con parada en la maduración en espermátidas secundaria a una anomalía en la meiosis suelen mostrar un número normal de espermatogonias y espermatocitos de primer orden, multinucleación frecuente de espermátidas jóvenes, presencia de espermátidas jóvenes con núcleos grandes, hipercromáticos, probablemente poliploides y presencia de espermátidas adultas binucleadas que comparten el acrosoma. Todos estos datos sugieren que el defecto en la meiosis se manifiesta de forma muy diferente, ya sea como ausencia de citocinesis al final de la meiosis con formación de espermátidas diploides o por disociación entre citocinesis y espermatogénesis.

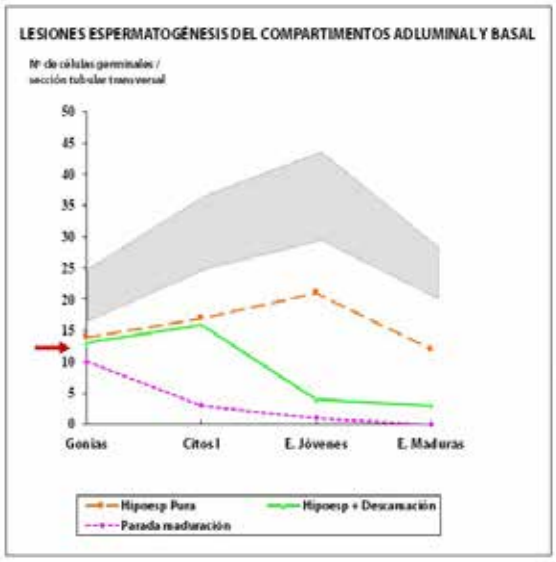
Parada en la maduración en espermátidas por defectos en la espermiogénesis. Algunos pacientes presentan un buen número de espermátidas jóvenes y disminución intensa o ausencia de espermátidas adultas. Existe una incapacidad para transformar las espermátidas jóvenes en adultas. Este hecho se ha relacionado con defectos estructurales específicos de las proteínas que forman los microtúbulos y microfilamentos y defectos en el factor Krüppel-like factor 4 (KLF4) ligado a la espermatogénesis. Los pacientes sólo muestran espermátidas redondas en los eyaculados. Es un patrón que puede aparecer de forma familiar.

**Lesiones de los compartimentos basal y adluminal de los tubos seminíferos.**

Las lesiones en los compartimentos basal y adluminal de los túbulos seminíferos son los hallazgos histológicos más frecuentes en las biopsias testiculares de pacientes infértiles y se clasifican en hipoespermatogénesis y parada en la maduración en espermatogonia.[2]

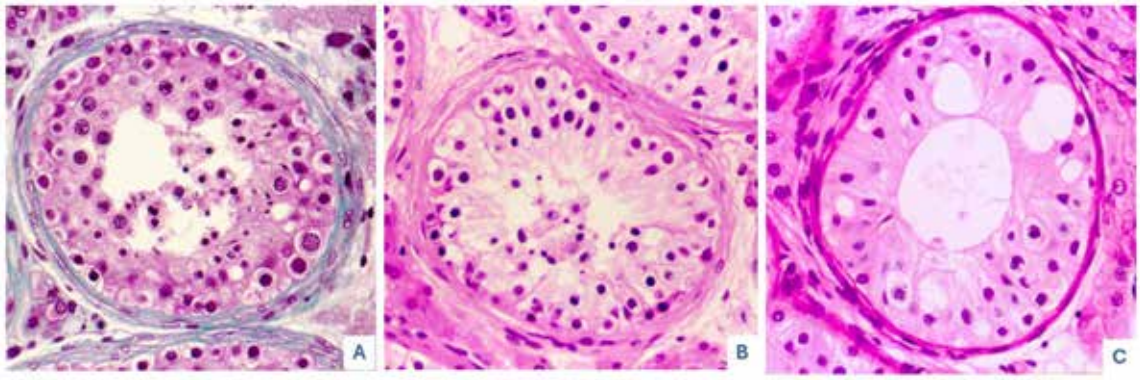
En la Figura 12 se representan gráficamente los recuentos de las células germinales en estas lesiones del compartimento adluminal y en la Figura 13 el aspecto morfológico de los tubos seminíferos.

**Figura 12.** Representación de los recuentos de células germinales en las lesiones del compartimento adluminal.




En todas estas lesiones el número de espermatogonias es inferior a 17 por sección tubular transversal.

**Figura 13.** Lesiones de los compartimentos basal y adluminal. A. Hipoespermatogénesis pura. B. Hipoespermatogénesis asociada a descamación de espermatocitos primarios. C. Parada en la maduración en espermatogonia.




**Hipoespermatogénesis**

La hipoespermatogénesis se define como un número de espermatogonias y espermatocitos de primer orden inferior al normal, pero con una conservación de la proporción entre estos dos tipos de células, siendo mayor el número de espermatocitos primarios. La mayoría de los túbulos seminíferos contienen pocas espermátidas. Aproximadamente el 8 % de los pacientes con hipoespermatogénesis presentan hialinización tubular focal. La mayoría de los pacientes presentan oligozoospermia severa. La inhibina B es el marcador endocrino más sensible y específico de hipoespermatogénesis.[33]

Desde punto de vista cuantitativo, hay dos variantes de hipoespermatogénesis: la hipoespermatogénesis pura y la hipoespermatogénesis asociada a descamación de espermatocitos de primer orden.

La ***hipoespermatogénesis pura*** se define por el mantenimiento de la proliferación y diferenciación de las células germinales a niveles inferiores a lo normal con una disminución proporcional del número

de todas las células de la línea germinal. El número de espermatogonias por túbulo transversal es inferior a 17 y generalmente superior a 10. El número de espermatocitos primarios es igual o superior al de espermatogonias. El número de espermátidas redondas es superior al de espermatocitos primarios, y el número de espermátidas alargadas es similar al de espermatogonias.

La *hipoespermatogénesis asociada a descamación de espermatocitos de primer orden* se caracteriza por: 1) un bajo número de espermatogonias y espermatocitos primarios, siendo el número de los espermatocitos de primer orden mayor que el de las espermatogonias, lo que concuerda con la definición de hipoespermatogénesis, y 2) degeneración y desprendimiento de muchos espermatocitos de primer orden. Los espermatocitos restantes dan lugar a las escasas espermátidas que se observan en los túbulos.

**Etiología**

La **hipoespermatogénesis pura** se ha relacionado con disfunción hormonal, deficiencia congénita de células germinales, disfunción de células de Sertoli, disfunción de células de Leydig, insensibilidad a andrógenos, exposición a agentes químicos o físicos y disfunción vascular.

*Desregulación hormonal*. Aunque los hombres con niveles bajos de FSH y LH pueden tener una espermatogénesis completa, la producción de un número normal de espermatozoides requiere niveles normales de gonadotropina. La hipoespermatogénesis puede ocurrir en pacientes con secreción pulsátil anormal de FSH y LH, baja secreción de gonadotropinas, gonadotropinas biológicamente inactivas, mutación en la subunidad β de la gonadotropina, mutaciones inactivadoras del gen FSHR, hiperprolactinemia y disfunción suprarrenal y tiroidea.

*Deficiencia congénita de células germinales.* La biopsia testicular de pacientes criptorquídicos tras orquidopexia revela que la proliferación de espermatogonias está disminuida y el desarrollo de células germinales es insuficiente en la edad adulta, incluso si el número de espermatogonias era normal en la infancia. Es probable que esta anomalía primaria poco conocida de las células germinales esté presente en algunos casos de hipoespermatogénesis.

*Disfunción de las células de Sertoli*. La disfunción de las células de Sertoli es la causa de muchos casos de disfunción de células germinales. Las células de Sertoli pueden presentar una maduración anormal, con núcleos alargados que contienen masas de cromatina gruesa en lugar de núcleos triangulares con cromatina pálida. La concentración sérica de inhibina B puede utilizarse como marcador para estimar la función de las células de Sertoli.[33]

*Disfunción de las células de Leydig*. Las células de Leydig son importantes por la síntesis de testosterona necesario para la espermatogénesis normal. Aproximadamente un 10-20 % de los pacientes con oligozoospermia, azoospermia o infertilidad idiopática presentan una función anormal de las células de Leydig.[34] La disfunción de las células de Leydig debe sospecharse cuando las células aparecen difusamente hiperplásicas. Los pacientes presentan una elevación de la LH sérica con depleción de la testosterona de liberación rápida, lo que revela una falta de respuesta precoz de las células de Leydig a la estimulación con GnRH.

*Insensibilidad a los andrógenos.* Aproximadamente un 2-3 % de pacientes con oligozoospermia grave o azoospermia presentan un defecto en la capacidad de respuesta a los receptores de andrógenos. Esta insensibilidad a andrógenos puede surgir de un defecto genético en los ocho exones que codifican para este receptor, mapeado en Xq11-12, o de errores postraduccionales. Este defecto también se conoce como síndrome del varón infértil y «mild androgen insensitivity síndrome» (MAIS). Los pacientes tienen un fenotipo masculino con rasgos somáticos de un ligero déficit de andrógenos. Histológicamente, el testículo es similar al observado en la disfunción de células de Leydig o atrofia mixta, aunque el mecanismo que causa la hiperplasia de células de Leydig es bastante diferente. Los niveles de LH y testosterona son elevados.

*Agentes físicos y químicos*. El número de los agentes físicos y químicos implicados en la infertilidad aumenta día a día. Entre los agentes físicos se numeran la exposición prolongada al calor, las radiaciones ionizantes y la radiación de microondas.

**Etiología de la hipoespermatogénesis asociada a la descamación de espermatocitos primarios**. Los estudios cuantitativos y cualitativos del epitelio seminífero en la hipoespermatogénesis asociada a la descamación de espermatocitos de primer orden permiten distinguir al menos tres situaciones:

- Túbulos seminíferos con células de Sertoli adultas con vacuolas citoplasmáticas apicales aumentadas, asociados a una espermatogénesis con escaso número de anomalías madurativas y ectasia tubular. Estos cambios sugieren una lesión del epitelio seminífero secundaria a un mecanismo obstructivo, que en muchos casos se asocia a un varicocele ipsilateral. Se desconoce el mecanismo por el que el varicocele afecta a la fertilidad. El varicocele clínico puede presentarse sin lesión testicular (o sólo flebectasia), y el varicocele subclínico puede asociarse a lesiones espermatogénicas graves. El aumento de la temperatura testicular y la compresión de los conductos excretores intratesticulares por venas dilatadas[28] son los mecanismos más plausibles.
- Túbulos seminíferos con células de Sertoli involutivas (núcleos con contornos excesivamente plegados e hipercromatismo), con o sin anomalías morfológicas de las células germinales. Estos cambios sugieren una alteración primaria o secundaria de las células de Sertoli, y anomalías secundarias de las células germinales. Se observa en casos de infertilidad idiopática.
- Tubos seminíferos con células de Sertoli adultas normales y anomalías de las células germinales que afectan preferentemente a los espermatocitos de primer orden y espermátidas. Se observa en anomalías de la meiosis.

Por último, en algunos pacientes la causa puede ser la presencia de células de Sertoli involucionadas.

**Parada de la maduración en espermatogonia**

La parada en la maduración en espermatogonia se define por la presencia de menos de 17 espermatogonias y un número inferior de espermatocitos de primer orden al número de espermatogonias por sección tubular transversal. Las espermátidas suelen estar ausentes. Se ha intentado correlacionar la etiología de la parada en la maduración de espermatogonia con el tipo de célula de Sertoli.[35] Según la variedad de células de Sertoli presente en casos de parada en la maduración en espermatogonia se puede relacionar de la siguiente forma:

- Las células de Sertoli inmaduras son características del hipogonadismo hipogonadotrópico y de algunos síndromes de insensibilidad a andrógenos. La lesión suele ser bilateral y los testículos tienen un aspecto infantil o puberal.
- Las células de Sertoli maduras. La afectación puede ser uni o bilateral. En los casos unilaterales se asocia a varicocele, epididimitis y traumatismos testiculares ipsilaterales, situaciones todas ellas que pueden lesionar el testículo por un mecanismo obstructivo. Cuando es bilateral la etiología es desconocida.
- Las células de Sertoli involutivas suelen estar presentes bilateralmente; algunos casos son idiopáticos, mientras que otros se asocian a antecedentes de alcoholismo o quimioterapia.
- Las células de Sertoli desdiferenciadas se produce por la inhibición de la gonadotropina en el tratamiento con estrógenos, agonistas de la GnRH o antiandrógenos.[22]
- Las células de Sertoli disgenéticas. Los tubos seminíferos son semejantes a los de solo células de Sertoli disgenéticas, pero con la diferencia de que en estos persisten algunas espermatogonias. Más de la mitad de los casos tienen historia de criptorquidia.

**Diagnóstico diferencial entre lesiones de mecanismo obstructivo y lesiones testiculares primarias**

La oligozoospermia puede observarse tanto en pacientes con lesiones obstructivas como no obstructivas. El primer paso es identificar si existe o no un proceso obstructivo porque las lesiones testiculares tienen mecanismos diferentes, pronósticos diferentes y tratamientos diferentes.[10] La diferenciación entre ambos procesos es fácil cuando se compara el número medio de espermátidas adultas por sección transversal de los túbulos seminíferos con el recuento de espermatozoides en millones por mililitro mediante la curva de potencia.[9]

Una vez conocido si existe o no un componente obstructivo, surge otro problema. Hay una serie de lesiones que se observan en la azoospermia obstructiva y en las oligozoospermias con cierto parecido histológico a algunas lesiones observadas en la azoospermia no obstructiva. Los problemas más frecuentes surgen cuando se trata de diferenciar entre la descamación de espermátidas y espermatocitos observada en la azoospermia obstructiva y los diferentes signos de parada de la maduración (parada en espermátidas, parada de espermatocitos y entre los diferentes tipos de hipospermatogénesis) Los datos a tener en cuenta para el diagnóstico diferencial se refieren a continuación.[36]

*Descamación de espermátidas jóvenes frente a parada en la maduración de espermátidas*. El estudio cuantitativo muestra que en ambas situaciones el número de espermatogonias, espermatocitos primarios y espermátidas redondas (Sa + Sb) es normal. Se diferencian en lo siguiente:

- Las espermátidas alargadas (Sc + Sd) están ausentes o son muy raras en los testículos con parada en la maduración en espermátidas y, aunque disminuidas en número, están presentes en la mayoría de los tubos seminíferos con descamación de espermátidas jóvenes en azoospermia obstructiva.
- Las espermátidas redondas de los testículos con parada en maduración en espermátidas suelen presentar núcleos hipercromáticos grandes y multinucleados.

*Descamación tardía de espermatocitos primarios frente a parada en la maduración de espermatocitos*. El compartimento basal es normal en ambos. Se diferencian en:

- El número de espermatocitos primarios de los testículos con parada en la maduración en espermatocitos primarios es muy elevado como consecuencia de anomalías en la meiosis, frente a un número normal en la descamación tardía de espermatocitos primarios.
- En los testículos con parada en la maduración de espermatocitos no se observan espermátidas o son muy escasas. En los testículos con descamación tardía de espermatocitos primarios el número de espermátidas redondas puede estar ligeramente disminuido, pero va acompañado de un aumento del número de espermátidas alargadas como consecuencia del bloqueo.

*Hipospermatogénesis asociada a descamación de espermatocitos primarios frente a la parada en la maduración en espermatogonia*. En ambos casos, los tubos seminíferos contienen un número reducido de espermatogonias y espermatocitos primarios. Mientras que en la parada en espermatogonia la presencia de espermatocitos primarios es rara, éstos están presentes en la mayoría de los tubos de la hipospermatogénesis asociada a la descamación de espermatocitos primarios, y a menudo su número es mayor que el de espermatogonias. En los testículos con parada en la maduración en espermatogonia no se observan cambios que sugieran un patrón obstructivo.

## ANOMALÍAS MORFOLÓGICAS DE LAS CÉLULAS GERMINALES EN PACIENTES INFÉRTILES

Además del estudio cuantitativo de los túbulos seminíferos, el examen de la biopsia testicular en infertilidad debe incluir la evaluación de la morfología de los diferentes tipos de células germinales. El interés por conocer estos cambios morfológicos de las células germinales en pacientes infértiles es doble; por una parte, evitar un falso diagnóstico de GCNIS y por otra, precisar los tipos celulares alterados ya que algunos son característicos permitiendo sugerir que la causa de la infertilidad es una anomalía primaria testicular. En un estudio histológicos convencional las anomalías identificadas con mayor más frecuencia son las que se relacionan a continuación.[2]

### Espermatogonias gigantes

Las espermatogonias gigantes aisladas representan un componente normal del epitelio seminífero, están apoyadas en la membrana basal y presentan un citoplasma pálido y un núcleo ovoide de al menos 13 µm de diámetro con una distribución homogénea de la cromatina. Se observan en una proporción de 0,65 por 50 tubos en situaciones normales y en pacientes infértiles, salvo en casos de atrofia mixta que son más frecuentes. Se pueden encontrar en la periferia de tumores de células germinales. Estas células no deben confundirse con GCNIS que tienen atipia, nucléolo prominente y positividad para OCT3/4, fosfatasa alcalina placentaria y D2-40. Las espermatogonias gigantes representan una forma alterada de espermatogonias en la división celular (Figura 14).

### Espermatogonias multinucleadas

Las espermatogonias multinucleadas son frecuentes en testículos criptorquídicos corregidos quirúrgicamente, en pacientes infértiles, en ancianos y pacientes tratados con testosterona.

### Espermatogonias dislocadas

La presencia de espermatogonias en el compartimento adluminal se observa únicamente en testículos normales en la zona de transición los tubos seminíferos y los túbulos rectos. Se pueden encontrar espermatogonias dislocadas en pacientes de edad avanzada, en pacientes infértiles con una variedad de lesiones del epitelio seminífero, después de terapia prolongada con estrógenos y en tubos seminíferos con GCNIS. Los tubos con espermatogonias dislocadas, incluso en la luz tubular, con frecuencia muestran alteraciones morfológicas en las células de Sertoli que presentan cambios disgenéticos o involutivos.

### Megalospermatocitos

Los megalospermatocitos son grandes espermatocitos de primer orden de gran tamaño (>20 micras) detenidos en la etapa leptoteno en la primera división meiótica que presentan asinapsis de los cromosomas. Generalmente se disponen en pequeños grupos (Figura 14). Se encuentran con frecuencia en hombres de edad avanzada y son un hallazgo inespecífico en pacientes infértiles. Probablemente representan clones de células germinales que degeneran.

### Espermátidas binucleadas

Representan el fracaso de la terminación de la segunda división meiótica. Se aprecian en pacientes con hiperprolactinemia y en pacientes con infertilidad idiopática.

**Espermátidas multinucleadas**

Se producen por fusión de las membranas plasmáticas. La presencia de espermátidas con múltiples núcleos (de 2 a 86) es frecuente en la edad avanzada. Figura 14) También se han descrito células similares con menos núcleos en la infertilidad secundaria a criptorquidia.

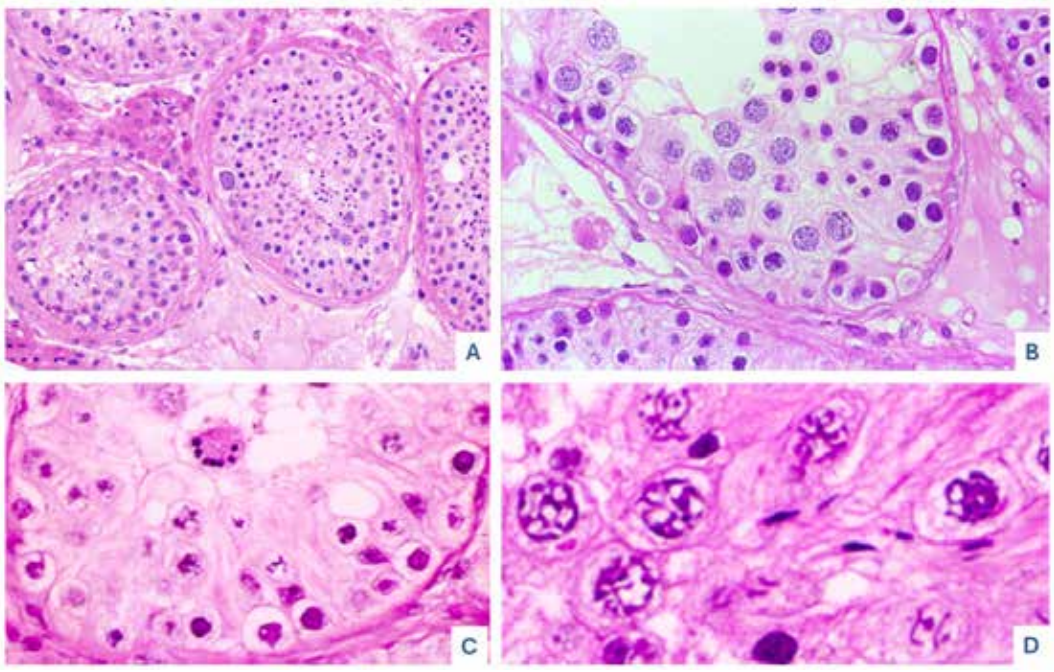
**Espermátidas malformadas**

Al menos cuatro síndromes teratozoospérmicos pueden ser fácilmente identificados en la biopsia, aunque el diagnóstico de la mayoría de ellos ya se ha hecho por el estudio morfológico del seminograma: 1) espermátidas adultas de núcleos redondos (características de espermatozoides que carecen de acrosoma); 2) espermátidas Sc + Sd de núcleo muy alargado (son características del varicocele, pero también pueden verse en obstrucciones parciales de la vía espermática próximas al testículo); (Figura 14) 3) espermátidas Sc + Sd macrocéfalas cuyo contenido de ADN sugiere una anomalía en la primera división meiótica; 4) espermátidas Sc + Sd con restos citoplasmáticos eosinófilos voluminosos (síndrome de los espermatozoides con flagelos cortos y gruesos o displasia de la vaina fibrosa).

**Espermatozoides morfológicamente anormales**

En todas las muestras de semen pueden verse espermatozoides morfológicamente anormales, pero estos son mucho más abundantes en pacientes infértiles. El estudio ultraestructural de los espermatozoides es a veces necesario para determinar la causa de la infertilidad masculina, para tecnología de reproducción asistida y para establecer el riesgo genético.[37] El estudio ultraestructural de los espermatozoides es recomendable en todos los casos de astenozoospermia, en casos de teratozoospermia con gran número de espermatozoides anormales y en casos de espermatozoides aparentemente normales que fallen en la fertilización in vitro. Las anomalías espermáticas pueden afectar a cualquier parte del espermatozoide: cabeza, cuello, pieza intermedia y cola.

**Figura 14.** Anomalías morfológicas de las células germinales. A. Megaespermatogonias. B. Megaloespermatocitos. C. Espermátidas jóvenes multinucleadas. D. Espermátidas maduras muy alargadas.



## INFERTILIDAD EN ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS

El uso rutinario de estudios citogenéticos en pacientes infértiles ha permitido conocer el porcentaje de pacientes infértiles con anomalías cromosómicas, evitando así tratamientos empíricos. La incidencia de anomalías cromosómicas en la población infértil es del 2 % al 7 %, mientras que en la población general es inferior al 0,5 %. [38] La frecuencia de anomalías cromosómicas aumenta en relación inversa con el número de espermatozoides en el eyaculado.[38] Los pacientes con oligozoospermia grave muestran una alteración cromosómica en el 5 % y los pacientes con azoospermia en un 10-15 %. Las aberraciones cromosómicas son las anomalías genéticas más frecuentes, incluyendo el síndrome de Klinefelter y sus variantes, las translocaciones recíprocas, las translocaciones robertsonianas, las inversiones y deleciones, las anomalías estructurales del cromosoma Y, las microdeleciones del cromosoma Y el síndrome de Down.[39] El pronóstico de muchos de estos pacientes ha cambiado en las dos últimas décadas. La observación repetida, en estudios histológicos de biopsias testiculares, de algunos tubos seminíferos con espermatogénesis fue la base para iniciar el cambio. El uso de técnicas de reproducción asistida (TESE, micro-TESE combinado con ICSI) permiten hoy en día alcanzar tasas de embarazo por transferencia embrionaria similares a las obtenidas en otros pacientes con azoospermia no obstructiva.

### Síndrome de Klinefelter

El síndrome de Klinefelter se caracteriza por un número anormal de cromosomas X e insuficiencia testicular primaria. Es la causa genética más frecuente de infertilidad masculina, afectando aproximadamente al 11 % de los pacientes con azoospermia. Los hallazgos clínicos más comunes son: fenotipo eunucoide con estatura aumentada, virilización incompleta, ginecomastia, generalmente bilateral, en 50 % de los pacientes y retraso mental. Los genitales externos suelen parecer normales. Los testículos suelen medir menos de 2,5 cm. La incidencia de criptorquidia es baja. En el 80 % de los casos, el cariotipo es 47,XXY. El 20 % restante presenta un mosaicismo cromosómico con al menos dos cromosomas X, más frecuentemente 46,XY/47,XXY (10 %).

En el paciente adulto que consulta por infertilidad las lesiones en el parénquima testicular afectan a los tubos seminíferos y al intersticio. Estas lesiones se caracterizan por una atrofia tubular que, mediante un proceso de hialinización con características disgenéticas que puede conducir a la desaparición completa de los túbulos, quedando sólo tubos fantasmas y por un aumento aparente del número de células de Leydig que tienden a unirse y a borrar la estructura testicular, formando agrupaciones preudoangiomatosas de células de Leydig.[40] Sin embargo, el número total de células de Leydig es inferior al normal.[41]

Algunos tubos pueden mostrar pocas células de Sertoli., y se pueden distinguir dos tipos de tubos con sólo células de Sertoli: tubos de tipo A, cuyas células de Sertoli presentan una morfología disgenética (distribución pseudoestratificada, núcleos hipercromáticos alargados con nucleolos pequeños y situados periféricamente); y tubos de tipo B, que muestran una luz central y cuyas células de Sertoli presentan un patrón adulto y maduro o algunos signos de involución (muchos pliegues nucleares). En algunos testículos están presentes ambos tipos.[42]

Excepcionalmente, se ha descrito espermatogénesis completa e incluso paternidad en casos con atrofia mixta en parénquima testicular. En el estudio de la biopsia testicular de un paciente con síndrome de Klinefelter se deberá informar si existen de la presencia y porcentaje de estos tubos con espermatogénesis y de la calidad de la misma para orientar al clínico de la posibilidad de realizar técnicas de reproducción asistida. Las tasas de embarazo combinando TESE con ICSI por transferencia embrionaria varían del 27,25 % al 50 % y no difieren de las obtenidas en otras pacientes con azoospermia no obstructiva. Para establecer el éxito de las técnicas de reproducción asistida en pacientes con síndrome de Klinefelter se tendrán en cuenta datos hormonales, la historia de criptorquidia (empeora el pronóstico), el volumen testicular, los tratamientos hormonales previos y el método de reproducción asistida utilizado.[43] La edad del paciente es uno de los datos más importantes. Dado que las lesiones testiculares en los pacientes con SK son progresivas, la extracción de

espermatozoides debe realizarse lo antes posible. Hay pacientes que en sólo dos años pasan de una oligozoospermia severa a una azoospermia. En condiciones normales se pueden encontrar espermatozoides en los eyaculados de muchos adolescentes de 13 años y en todos los adolescentes de 15 años. La calidad de la espermatogénesis mejora progresivamente hasta los 17 años, edad en la que es completamente normal. Podría establecerse la edad de 15 años como límite inferior. Se está estudiando la preservación de la fertilidad mediante el almacenamiento de esperma en la pubertad media. Actualmente, un problema importante es el frecuente retraso en el diagnóstico de los pacientes con SK, que suele posponerse hasta que la pareja consulta por infertilidad. Treinta y cinco años parece una edad crítica para la extracción de esperma.[44]

**Varones 46,XX con fenotipo masculino y genitales externos normales**

Los pacientes varones con cariotipo 46,XX presentan hipogonadismo hipergonadotrópico con un nivel sérico elevado de FSH y LH, con testosterona normal o ligeramente disminuida. Todos los pacientes son estériles. Las biopsias de adultos muestran uno de los tres patrones: características histológicas similares a las de los hombres 47,XXY, incluyendo hialinización tubular difusa con presencia predominantemente de células de Leydig;[45] tubos con sólo células de Sertoli (muchas de ellas células disgenéticas) o ambos patrones entremezclados con células de Leydig. El último patrón es el más frecuente. Algunos tubos en cualquiera de los patrones pueden mostrar espermatogonias aisladas e incluso algunos espermatocitos primarios.

**Síndrome 47,XYY**

En la edad adulta, presentan genitales externos y características sexuales secundarias normales. Algunos pacientes presentan una disminución de la fertilidad, otros son infértiles. En las biopsias testiculares se observa un patrón de atrofia mixta caracterizada por tubos con espermatogénesis asociados a tubos con sólo células de Sertoli. Los túbulos con espermatogénesis pueden mostrar espermatogénesis normal o presentar lesiones en los compartimentos adluminal o basal.

**Anomalías estructurales del cromosoma Y**

Clínicamente se reconocen las siguientes deleciones y reordenamientos visibles microscópicamente que afectan a la región Yq11: cromosomas Yq monocéntricos, cromosomas Yq dicéntricos del brazo corto (dic-Yp), cromosomas Y con estructura anular (rin-Y), cromosomas de translocación Y/Y translocación del cromosoma Y a un autosoma o al cromosoma X

El hallazgo histológico más frecuente en estos casos es el patrón de sólo células de Sertoli. El número de células de Leydig es normal o está aumentado. En casos de cromosoma Y en anillo y traslocación cromosómica Y/Y puede observarse una parada en la maduración en espermatocitos.[43]

Microdelecciones del cromosoma Y. El cromosoma Y se divide en siete intervalos de deleción: los números de 1 a 4 corresponden al brazo corto y a la región centromérica, y los números de 5 a 7 corresponden al brazo largo. La mayoría de las deleciones en pacientes infértiles se producen en tres subregiones no superpuestas del cromosoma Y (Yq11), localizadas en los intervalos 5 y 6: AZFa, AZFb y AZFc.

Las microdeleciones del cromosoma Y se observan en el 2 % en la población general de hombres no seleccionados y en el 6 % al 21 % de los casos de infertilidad masculina idiopática, con diferencias étnicas y geográficas, así como diferencias relacionadas con la metodología del estudio.[46]

Algunos pacientes presentan deleción completa de la región AZF, pero la mayoría de los pacientes tienen deleción de sólo una subregión, que puede ser incluso completa o parcial.[47] Clínicamente, el 90 % de los pacientes con microdeleción del cromosoma Y presentan testículos pequeños, aumento del nivel de FSH y azoospermia u oligozoospermia grave.

La correlación existente entre genotipo y fenotipo es inexacta pero la mayoría de las microdeleciones en AZFa, AZFb y AZFc se asocian con síndrome de sólo células de Sertoli, parada en la maduración o atrofia mixta. Las microdeleciones de la subregión AZFa representan el 5 % de las microdeleciones del cromosoma Y. La deleción completa de AZFa produce un patrón de solo células de Sertoli. y las microdeleciones parciales no alteran la espermatogénesis. Las microdeleciones de la subregión AZFb representan el 10-16 % de las microdeleciones del cromosoma Y. Los pacientes con deleción completa de la subregión AZFb presentan azoospermia, y la biopsia muestra un patrón de sólo células de Sertoli o parada en la maduración. Las microdeleciones de la subregión AZFc son las más frecuentes de todas las microdeleciones (80 %),[48] presentes en el 5 % al 10 % de todos los pacientes con azoospermia u oligozoospermia grave. Morfológicamente, se pueden observar parada en la maduración de los espermatocitos primarios, parada en la maduración de las espermátidas, o un patrón de atrofia mixta.

Se recomienda la investigación de microdeleciones del cromosoma Y en todos los pacientes con oligozoospermia grave o azoospermia. Se espera que los hijos concebidos con esperma de hombres con microdeleciones del cromosoma Y hereden el cromosoma Y anómalo y problemas de infertilidad.[49] Clínicamente, se recomienda el uso primario de semen de donante en lugar de TESE para los hombres con deleciones que implican la pérdida completa de la subregión AZFa o AZFb.[46]

### Anomalías en los autosomas

Las translocaciones recíprocas y las translocaciones robertsonianas están presentes en uno o dos de cada 1000 recién nacidos. En pacientes infértiles la incidencia es 10 veces mayor que en la población general.[43]

## ANOMALÍAS DEL INTERSTICIO TESTICULAR

### Células de Leydig

Un número bajo de células de Leydig o incluso su ausencia de observa en casos de hipogonadismos hipogonadotrópicos por déficit de LH, asociados o no a déficit de FSH y en pacientes con LH biológicamente inactiva.

Se puede ver hiperplasia de células de Leydig en pacientes con hipogonadismo hipogonadotrópico tratado con hCG, en algunos pacientes con varicocele, en infertilidad idiopática, en pacientes infértiles por insensibilidad a andrógenos, en tratamientos con inhibidores de 5-α-reductasa. Para establecer el diagnóstico de hiperplasia de células de Leydig hay que tener en cuenta varios hechos: 1) el número de células de Leydig disminuye con la edad, a la mitad en los primeros 30 años de vida adultas; 2) con la edad las células de Leydig tienden a formar acumulaciones, dando una falsa imagen de hiperplasia y 3) la formación de nódulos de células de Leydig se produce tanto en casos de pacientes con anomalía testicular primaria (Síndrome de Klinefelter y criptorquidia) como en atrofias testiculares adquiridas (postorquítica o postobstructiva). Estos hechos sugieren que en la mayoría de los casos se trataría de pseudohiperplasias. Para valorar las auténticas hiperplasias habría que valorar no solo el número de células de Leydig, sino también su tamaño. Las células de Leydig hipertróficas muestran aumento de tamaño y eosinofilia del citoplasma, presencia de varios nucléolos y disminución o ausencia de cristales de Reinke.[2] Estudios morfológicos, inmunohistoquímicos y morfométricos sugieren que en azoospermias no obstructivas la disminución en el número de las células de Leydig puede explicarse por los cambios inflamatorios previos y simultáneos en el intersticio testicular que causarían fibrosis intersticial. La fibrosis intersticial podría inducir un deterioro de la función y, finalmente, el agotamiento de las células de Leydig.[50]

**Células cebadas**

En pacientes de infertilidad se ha observado un aumento del número de células cebadas tanto intersticiales como peritubulares sobre todo en casos de infertilidad idiopática, atrofia mixta, orquitis autoinmune y pacientes con abuso de alcohol.[1] Este aumento de células cebadas probablemente se a un proceso secundario al daño de los tubos seminíferos.

## FACTORES DE MAL PRONÓSTICO DE FERTILIDAD EN LA BIOPSIA TESTICULAR

La biopsia testicular proporciona información pronóstica sobre la fertilidad del paciente. Cuando existen hallazgos asociados a un mal pronóstico, las pacientes pueden requerir técnicas de reproducción asistida. Se consideran del mal pronóstico los hallazgos que se exponen a continuación:[2]

- Presencia de más de 25 % de tubos seminíferos con hialinización.
- Presencia de más de 50 % de tubos seminíferos con solo células de Sertoli.
- Engrosamiento difuso de la túnica propia.
- Lesiones del comportamiento adluminal y lesiones del compartimento basal con una desproporcionada descamación de un tipo celular (espermatocitos I o espermátidas jóvenes).
- La mayoría de las paradas en la maduración en espermatogonias.
- Los testículos con anomalías en la meiosis (a excepción de la presencia focal de megaloespermatocitos I) y anomalías en la espermiogénesis.
- Presencia de infiltrados inflamatorios intersticiales peritubulares.

## RESUMEN DE LOS GRUPOS DIAGNÓSTICOS SUGERIDOS POR LA BIOPSIA TESTICULAR

La biopsia testicular proporciona información suficiente para identificar tres tipos principales de procesos patológicos: 1) trastornos obstructivos de las vías espermáticas (causas posttesticulares); 2) trastornos testiculares primarios (causas testiculares) y 3) trastornos testiculares secundarios a alteraciones del eje hipofisario-hipofisario-testicular u otros trastornos endocrinos o cromosómicos. Además, proporciona información pronóstica en relación a la fertilidad y orienta el tratamiento.

**Bibliografía**


1. Nistal M, Regadera J, González-Peramato P. Biopsia testicular en Infertilidad. Editorial Harcourt. 2001. Madrid. ISBN: 84-8174-572-3.

2. Nistal M, Paniagua R, González-Peramato P. Nonneoplastic diseases of the testis. En «Urologic Surgical Pathology». 4th Ed. Editores: Cheng L,Maclennan GT, Bostwick DG. Editorial Elsevier Saunders. Philadelphia 2019. ISBN: 978-0-323-54941-7. pp: 549-730.

3. Nistal M, Paniagua R. Testicular biopsy: contemporary interpretation. Urol Clin North Am 1999;26:555–93.

4. Olesen IA, Andersson AM, Aksglaede L, Skakkebaek NE, Rajpert-de Meyts E, Joergensen N, y cols. Clinical, genetic, biochemical, and testicular biopsy findings among 1,213 men evaluated for infertility. Fertil Steril. 2017;107:74–82. e77.

5. Dohle GR, Elzanaty S, van Casteren NJ. Testicular biopsy: clinical practice and interpretation. Asian J Androl. 2012;14:88–93.

6. DieckmannKP, KregeS, WeissbachL, German Testicular Cancer Study Group (GTCSG). Handling and reporting of biopsy and surgical specimens of testicular cancer. Eur Urol 2004;45:564–73.

7. Al-Hussain T, Borhan WM. Interpretation of testicular biopsy for infertility: a practical guide. Histopathology. 2024. doi: 10.1111/his.15366.

8. Silber SJ, Rodriguez-Rigau LJ. Quantitative analysis of testicular biopsy: determination of partial obstruction and prediction of sperm count after surgery for obstruction. Fertil Steril 1981;36:480–5.

9. Nistal M, Codesal J, Santamaría L, Paniagua R. Correlation between spermatozoon numbers in spermiogram and seminiferous epithelium histology in testicular biopsies from subfertile men. Fertil Steril 1987;48:507–9.

10. Galmes Belmonte I, Nistal Martin de Serrano M. Partial obstruction of the seminal path, a frequent cause of oligozoospermia in men. Hum Reprod 1998, 13:3402-3405.

11. Andrade DL, Viana MC, Esteves SC. Differential Diagnosis of Azoospermia in Men with Infertility. J Clin Med. 2021;10:3144.

12. Nistal M, González-Peramato P, Serrano A. Value of Testicular Biopsy in Nonobstructive Azoospermia. Chapter 16 In: Clues in the Diagnosis of Non-tumoral Testicular Pathology. Editores: Nistal M, González-Peramato P, Serrano A. Ed Springer. Cham, Switzerland. 2017. pp 131-139. ISBN 978-3-319-49364-0

13. Nistal M, Pastrián LG, González-Peramato P, De Miguel MP. Inhibin bodies: a new marker for immature Sertoli cells. Histopathology 2011;58:1019–27.

14. Nistal M, Jimenez F, Paniagua R. Sertoli cell types in the Sertolicell- only syndrome: relationships between Sertoli cell morphology and aetiology. Histopathology. 1990;16:173–180.

15. Jiang Y, Yang X, Li L, Lv X, Wang R, Zhang H, Liu R. Identification and verification of potential biomarkers in sertoli cell-only syndrome via bioinformatics analysis. Sci Rep. 2023;13:12164.

16. Nistal M, Paniagua R, Abaurrea MA, Santamaría L. Hyperplasia and the immature appearance of Sertoli cells in primary testicular disorders. Hum Pathol. 1982;13:3-12.

17. Terada T, Hatakeyama S. Morphological evidence for two types of idiopathic 'Sertoli-cell-only' syndrome. Int J Androl. 1991;14:117-26.

18. Gotoh M, Miyake K, Mitsuya H. Elastic fibers in tunica propria of undescended and contralateral scrotal testes from cryptorchid patients. Urology. 1987;30:359-63.

19. Blagosklonova O, Fellmann F, Clavequin MC, Roux C, Bresson JL. AZFa deletions in Sertoli cell-only syndrome: a retrospective study. Mol Hum Reprod. 2000;6:795–799.

20. Miyamoto T, Bando Y, Koh E, Tsujimura A, Miyagawa Y, Iijima M y cols. A PLK4 mutation causing azoospermia in a man with Sertoli cell-only syndrome. Andrology. 2016;4:75–81.

21. Bukhari I, Li G, Wang L, Iqbal F, Zhang H, Zhu J y cols. Effects of androgen receptor mutation on testicular histopathology of patient having complete androgen insensitivity. J Mol Histol. 2017;48:159–167.

22. Nistal M, Gonzalez-Peramato P, De Miguel MP. Sertoli cell dedifferentiation in human cryptorchidism and gender reassignment shows similarities between fetal environmental and adult medical treatment estrogen and antiandrogen exposure. Reprod Toxicol. 2013; 42:172-9.

23. Sharpe RM, McKinnell C, Kivlin C, Fisher JS. Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. Reproduction 125: 769-784, 2003.

24. Luetjens CM, Gromoll J, Engelhardt M, Von Eckardstein S, Bergmann M, Nieschlag E y cols. Manifestation of Ychromosomal deletions in the human testis: a morphometrical and immunohistochemical evaluation. Hum Reprod. 2002;17: 2258–2266.

25. Nistal M, Gonzalez-Peramato P, Paniagua R. Diagnostic value of differential quantification of spermatids in obstructive azoospermia. J Androl. 2003;24:721–726.

26. Meyer JM, Maetz JL, Rumpler Y. Cellular relationship impairment in maturation arrest of human spermatogenesis: an ultrastructural study. Meyer JM, Maetz JL, Rumpler Y. Histopathology. 1992;21:25-33.

27. Takihara H, Sakatoku J, Cockett AT. The pathophysiology of varicocele in male infertility. Fertil Steril. 1991;55:861–868.

28. Nistal M, Paniagua R, Regadera J, Santamaria L. Obstruction of the tubuli recti and ductuli efferentes by dilated veins in the testes of men with varicocele and its possible role in causing atrophy of the seminiferous tubules. Int J Androl. 1984;7:309–323.

29. Nistal M, González-Peramato P, Serrano A. Clues to the Analysis of Testicular Lesions in Infertile Patients with Varicocele. Chapter 22 In: Clues in the Diagnosis of Non-tumoral Testicular Pathology. Editores: Nistal M, González-Peramato P, Serrano A. Ed Springer. Cham, Switzerland. 2017. pp 191-198. ISBN 978-3-319-49364-0

30. Kostova E, Yeung CH, Luetjens CM, Brune M, Nieschlag E, Gromoll J. Association of three isoforms of the meiotic BOULE gene with spermatogenic failure in infertile men. Mol Hum Reprod. 2007;13:85–93.

31. Guichaoua MR, Perrin J, Metzler-Guillemain C, Saias-Magnan J, Giorgi R, Grillo JM. Meiotic anomalies in infertile men with severe spermatogenic defects. Hum Reprod. 2005;20:1897-902.

32. Matsuda T, Horii Y, Hayashi K, Yoshida O. Quantitative analysis of seminiferous epithelium in subfertile carriers of chromosomal translocations. Int J Fertil. 1991;36:344-51.

33. Kumanov P, Nandipati KC, Tomova A, Robeva R, Agarwal A. Significance of inhibin in reproductive pathophysiology and current clinical applications. Reprod Biomed Online. 2005;10:786-812.

34. Andersson AM, Jorgensen N, Frydelund-Larsen L, Rajpert-De Meyts E, Skakkebaek NE. Impaired Leydig cell function in infertile men: a study of 357 idiopathic infertile men and 318 proven fertile controls. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89:3161–3167.

35. Nistal M, De Mora JC, Paniagua R. Classification of several types of maturational arrest of spermatogonia according to Sertoli cell morphology: an approach to aetiology. Int J Androl. 1998;21:317–326.

36. Nistal M, González-Peramato P, Serrano A. Obstructive Mechanism Lesions Simulating Primary Testicular Lesions. Chapter 17 In: Clues in the Diagnosis of Non-tumoral Testicular Pathology. Editores:Nistal M, González-Peramato P, Serrano A. Ed Springer. Cham, Switzerland. 2017. pp 143-149. ISBN 978-3-319-49364-0

37. Mitchell V, Sigala J, Ballot C, Jumeau F, Barbotin AL, Duhamel A y cols. Light microscopy morphological characteristics of the sperm flagellum may be related to axonemal abnormalities. Andrologia. 2015;47:214-20.

38. Bertini V, Simi P, Valetto A. Cytogenetic study of 435 subfertile men: incidence and clinical features. J Reprod Med 2006;51:15–20.

39. Agarwal A, Baskaran S, Parekh N, Cho CL, Henkel R, Vij S, y cols. Male infertility. Lancet. 2021;397:319-333.

40. Klinefelter HF, Reifenstein EC, Albright F. Syndrome characterized by gynecomastia, aspermatogenesis without aleydigism and increased excretion of follicle-stimulating hormone. J Clin Endocrinol 1942;2:615–27.

41. Nistal M, Santamaría L, Paniagua R. Quantitative and ultrastructural study of Leydig cells in Klinefelter's syndrome. J Pathol 1985;146:323–31.

42. Skakkebaek E. Two types of tubules containing only Sertoli cells in adults with Klinefelter syndrome. Nature 1969;223:643–5.

43. Nistal M, González-Peramato P, Serrano A. Fertility in Patients with Chromosome Abnormalities. Chapter 18 In: Clues in the Diagnosis of Non-tumoral Testicular Pathology. Editores: Nistal M, González-Peramato P, Serrano A. Ed Springer. Cham, Switzerland. 2017. pp 151-159. ISBN 978-3-319-49364-0

44. Ramasamy R, Ricci JA, Palermo GD, Gosden LV, Rosenwaks Z, Schlegel PN. Successful fertility treatment for Klinefelter's syndrome. J Urol. 2009;182:1108-13.

45. Kim JW, Bak CW, Chin MU, Cha DH, Yoon TK, Shim SH. SRY-negative 46,XX infertile male with Leydig cell hyperplasia: clinical, cytogenetic, and molecular analysis and review of the literature. Fertil Steril 2010;94:753.e5–9.

46. Stahl PJ, Masson P, Mielnik A, Marean MB, Schlegel PN, Paduch DA. A decade of experience emphasizes that testing for Y microdeletions is essential in American men with azoospermia and severe oligozoospermia. Fertil Steril 2010;94:1753–6.

47. Krausz C, Navarro-Costa P, Wilke M, Tüttelmann F. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: State of the art 2023. Andrology. 2024;12:487-504.

48. Lee TH, Song SH, Kim DK, Shim SH, Jeong D, Kim DS. An analysis of Y-chromosome microdeletion in infertile Korean men with severe oligozoospermia or azoospermia. Investig Clin Urol. 2024;65:77-83.

49. Patrat C, Bienvenu T, Janny L, Faure AK, Fauque P, Aknin-Seifer I y cols. Clinical data and parenthood of 63 infertile and Y-microdeleted men. Fertil Steril 2010;93:822–32.

50. Hauptman D, Perić MH, Marić T, Bojanac AK, Sinčić N, Zimak Z, y cols. Leydig Cells in Patients with Non-Obstructive Azoospermia: Do They Really Proliferate? Life (Basel). 2021;11:1266.

# Actualización de las recomendaciones para diagnóstico de piezas de nefrectomía

**Ferran Algaba[1], Francisco Díaz Crespo[2]**

1. *Fundació Puigvert. Barcelona. Universitat Autònoma de Barcelona*
2. *Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid*

Los datos a referir en las distintas muestras tienen como objetivo la precisión en el diagnóstico, para ello se deben incluir tanto información anatomo-patológica como del modo en que se ha recibido la muestra, estos últimos si se considera que tienen implicación en el resultado del dictamen final.

Este protocolo se refiere sólo a los tumores del parénquima renal, las recomendaciones de las piezas de nefrectomía por carcinomas de las vías urinarias altas se especifican en los protocolos de vía urinaria.

Los datos recomendados en las diferentes piezas son:

## NEFRECTOMÍA (PARCIAL O TOTAL) POR TUMOR EN EL PARÉNQUIMA INSPECCIÓN MACROSCÓPICA

- Tipo de pieza remitida: Tumorectomía, nefrectomía parcial, nefrectomía total.
- Forma en que ha sido remitida la muestra (en fresco, fijada, seccionada…).
- Identificaciones remitidas (lado, zona de procedencia, en caso de resecciones parciales, estructuras incluidas), y en caso de carecer de dichas identificaciones mencionarlo en la descripción.
- Si se recibe en fresco es recomendable no decapsular ni extraer el tejido adiposo en contigüidad con la pieza, haciendo los cortes a través de él. Una vez inspeccionada la superficie y comprobada la relación riñón/tejido adiposo se puede decapsular si no hay ninguna área adherida, y realizar secciones longitudinales paralelas de 1- 2 cm. de grosor para una correcta fijación con formol durante toda la noche.

### Descripción macroscópica

- Los tejidos incluidos (suprarrenal, tejido adiposo, longitud del uréter).
- Peso y diámetros máximos del riñón (sin el tejido adiposo).
- Aspecto externo, con especial referencia a la masa tumoral y sus posibles nódulos satélites, si se identifican externamente.
- Aspecto de la masa (s) tumoral (es) al corte:
  - Localización (polos, tercio medio), cortical, medular, ambas.
  - Forma y diámetros máximos.
  - Coloración y aspecto (especificar porcentaje de necrosis macroscópica)

    - Delimitación del entorno (parénquima y tejido adiposo)
    - Estado del seno renal y relación con la vía intrarrenal (cálices, pelvis y uréter)
- Características del parénquima no tumoral.
- Características de las vías.
- Estado de las estructuras del hilio renal (vena y arteria).
- Aspecto externo y al corte de la suprarrenal, si está incluida.
- Ganglios, si son reconocibles, número y tamaño.
- En nefrectomías parciales aspecto de la superficie quirúrgica.

Los márgenes de resección deben ser marcados con tinta china en las exéresis parciales. En las resecciones totales se pueden marcar sólo las superficies quirúrgicas sospechosas a la inspección macroscópica. Siempre que sea posible, deberá fotografiarse la pieza.

**Selección de las secciones**

- El muestreo del tumor debe incluir todas las zonas que destaquen en especial. Incluirlo en su totalidad si mide de 2 a 3 cm., y en los tumores mayores al menos una sección por cada centímetro del diámetro máximo de la masa.
- Los nódulos satélites, si existen, también se han de tomar para el estudio microscópico. En caso de que excedan de un número prudencial (más de 5 o 6) se pueden tomar muestras de los mayores y de los menores, en caso de un aspecto macroscópico diferente.
- Muestras del tejido adiposo (perirrenal y del seno renal) si están próximos al tumor.
- Las muestras de la vía deben ser representativas de la pelvis y del uréter, escogiendo aquellas áreas con lesión, si la hubiere.
- La muestra de la vena es obligada si hay un trombo, o sospecha de él, siendo facultativa su toma en ausencia de él (pero es aconsejable porque es la mejor forma de tener un documento de la ausencia de invasión venosa).
- La suprarrenal, debe ser incluida entre las muestras.
- Se han de tomar un mínimo de 2 secciones del parénquima normal (próximo y alejado del tumor).
- Aunque el urólogo no remita el tejido adiposo (con eventuales ganglios) por separado, siempre debe extraerse la grasa de alrededor del hilio e incluir los ganglios que se encuentren.
- En las resecciones parciales deben hacerse cuatro secciones (como mínimo) en cruz del límite quirúrgico, y como es obvio especialmente de aquellas áreas más próximas al tumor.
- Clave de las secciones escogidas, si se cree oportuno.
- La toma de material fresco para congelar es facultativo, siendo recomendable (en los centros en los que no se toma de forma sistemática) en los tumores de pacientes de 20 años o menos (posibles carcinomas de translocación), y en casos de sospecha o certeza de carcinomas familiares.

**Descripción microscópica**

Es facultativa, aunque recomendable, pues ayuda a la precisión de la observación microscópica, sobre todo en centros con formación de residentes. En caso de hacerse debe indicarse:

- El tipo(s) celular de la neoplasia, con sus variaciones y el porcentaje de ciertos subtipos (por ejemplo el sarcomatoide).
- Patrón(es) de crecimiento, tamaño nuclear y presencia de nucleolos.
- Presencia y extensión de necrosis, especialmente en los no papilares.
- Su relación con el parénquima no tumoral y el tejido adiposo (perirrenal o del seno renal).
- La invasión microvascular o perineural.
- El estado del límite quirúrgico.
- Las características de las posibles lesiones tumorales satélites

- El estado del parénquima no tumoral, con especial interés en las posibles lesiones precursoras de la neoplasia. Especificar si existe patología glomerular/túbulo-intersticial/vascular (funcional) concomitante.
- Estado del hilio renal.
- Estado de la suprarrenal (si está incluida).
- En caso de hallar ganglios con metástasis, medir la metástasis y valorar su eventual extensión al tejido adiposo de alrededor.

**Inmunohistoquímica recomendada**

Aunque en la mayoría de los casos no se precisa ningún estudio adicional para determinar la naturaleza de la neoplasia puede servir como guía general

En caso de dudar si es una neoplasia renal o una metástasis el marcador más usado es el PAX8.

Para determinar el tipo celular no existe ningún marcador específico por lo que es recomendable utilizar un panel orientado según el tipo celular observado, siendo los marcadores más usados:

- En células claras: CAIX y CK7
- En carcinomas con predominio de patrón papilar: AMACR, TFE3
- En tumores con células eosinófilas: CD117, CK7, CK20, GATA3, FH, SDHB, CK34βE12, HMB45, Melan A, Catepsina K, TFE3, WT1, CD1.
- Carcinomas de alto grado y aspecto muy pleomórfico: ALK, CK34βE12, OCT3/4, INI1
- Muy ocasionalmente puede ser necesario algún estudio molecular como es en el carcinoma por déficit de *ELOC*
- No existen marcadores pronósticos o de diana, suficientemente probados.

**Diagnóstico**

Ha de ser concreto, con términos precisos, si la patología tiene una nomenclatura concreta, o descriptivos, si carece de ellos.

Debe incluir:

- El tipo celular de la neoplasia.
- El grado de diferenciación tumoral.
- La extensión y el tamaño del tumor. Categoría pT.
- La presencia de invasión microvascular peritumoral y/o del seno renal.
- El estado de los márgenes.
- Las lesiones del parénquima no tumoral.

## CLASIFICACIONES RECOMENDADAS EN LA PATOLOGÍA NEOPLÁSICA DEL PARÉNQUIMA RENAL

### En los TUMORES RENALES DEL ADULTO

Para la clasificación de los tipos celulares se recomienda la de la quinta edición del 2022 de la OMS.

Para la evaluación del grado se recomiendan la clasificación de la OMS 2022 en la que los tres primeros grados se basan en el tamaño del nucleolo y el grado 4 en la anaplasia (sarcomatoide-rabdoide…) de la neoplasia. Esta gradación se ha validado en el carcinoma de células claras y en los carcinomas papilares. No está justificada en los otros subtipos, pero en ellos debe comunicarse la presencia de áreas anaplásicas. Se ha de tener en cuenta el subtipo histológico:

- En los carcinomas de células claras se recomienda el grado nucleolar de la ISUP.
- Para los carcinomas papilares el grado nucleolar de ISUP.
- Los carcinomas cromófobos no se gradan y sólo debe referirse en caso de que haya áreas anaplásicas y/o sarcomatoides.
- Los nuevos subtipos no se gradan a excepción de que haya áreas anaplásicas o sarcomatoides. Para la extensión se recomienda el TNM octava edición.

### En los TUMORES RENALES DE LA INFANCIA

Se recomienda adaptar la terminología y la valoración de los factores pronósticos a los protocolos terapéuticos que se sigan en el centro. Las directrices más usadas son las del National Wilms Tumor Study (NWTS), y las de la Societé Internationale d´Oncologie Pediatrique (SIOP) (6). La OMS 2022 recomienda seguir los criterios de anaplasia y el estadio del Children's Oncology Group (COG) y de la International Society of Paediatric Oncology (ISUP)

## NEFRECTOMIA PARCIAL O TOTAL POR PATOLOGIA NO TUMORAL DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA

Los datos que deben reflejarse son:

- La referencia de donde nos indican que procede la muestra, y los tejidos acompañantes.
- El peso y los tres máximos diámetros.
- El aspecto externo y al corte.
- Las características de la vía urinaria incluida en la muestra. Debemos tener en cuenta la causa que ha motivado la extirpación quirúrgica, para buscar aquellos aspectos anatomo-patológicos peculiares de dicha patología. Selección de las secciones:
- Toda zona que se diferencie de lo normal debe ser escogida.
- Si el aspecto es homogéneo estará indicada una sección por grupo calicilar representado en la muestra, que incluya cortical, medular y tejido del seno renal.
- Clave de la procedencia de las secciones escogidas si se cree oportuno.

### Descripción microscópica

En caso de hacerse la descripción microscópica es recomendable indicar el estado de:

- La cortical, haciendo referencia al estado de los glomérulos, túbulos, intersticio y vasos, aunque sus cambios no tengan relación con la patología principal.
- La medular, resaltando aquellos datos que puedan relacionarse con la patología principal.
- La vía urinaria y el tejido del seno renal.

**PROTOCOLO PARA LAS BIOPSIAS DE MASA TUMORAL RENAL**

En caso de recibir biopsias de una tumoración renal el informe debe detallar:

- Lateralidad de la muestra y localización de la masa tumoral (polo superior, inferior o tercio medio)
- Número de cilindros recibidos
- Si la muestra es suficientemente representativa de un tumor
- Tipo histológico del tumor (según quinta edición de la clasificación de la OMS 2022)
- Grado y/o presencia de áreas sarcomatoides/rabdoides (OMS 2022)
- Necrosis, especialmente si no se identifica neoplasia
- Utilización de inmunohistoquímica con los mismos supuestos indicados en las piezas de nefrectomía
- Descripción de cualquier otra patología que pueda estar presente

**Bibliografía**


1. Trpkov K, Grignon DJ, Bonsib SM, Amin MB, Billis A, Lopez-Beltran A, Samaratunga H, Tamboli P, Delahunt B, Egevad L, Montironi R, Srigley JR; members of the ISUP Renal Tumor Panel. Handling and staging of renal cell carcinoma: the International Society of Urological Pathology Consensus (ISUP) conference recommendations. Am J Surg Pathol. 2013 Oct;37(10):1505-17. doi: 10.1097/PAS.0b013e31829a85d0. PMID: 2402552

2. Delahunt B, Cheville JC, Martignoni G, Humphrey PA, Magi-Galluzzi C, McKenney J, Egevad L, Algaba F, Moch H, Grignon DJ, Montironi R, Srigley JR; Members of the ISUP Renal Tumor Panel. The International Society of Urological Pathology (ISUP) grading system for renal cell carcinoma and other prognostic parameters. Am J Surg Pathol. 2013 Oct;37(10):1490-504. doi: 10.1097/PAS.0b013e318299f0fb. PMID: 24025520.

3. Algaba F. La Categoría Tumor en el carcinoma renal. Criterios morfológicos para una mejor estratificación pronóstica. Rev Esp Patol. 2021 Jul-Sep;54(3):171-181. Spanish. doi: 10.1016/j.patol.2020.09.004. Epub 2020 Dec 11. PMID: 34175029.

4. Amin MB, Gill AJ, HartmanA, Lazar AJ, Moch H, Tickoo SK, Turajlic S. WHO classification of tumours series, 5th ed, vol 8, IARC 2022

5. Reuter VE, Argani P, Zhou M, Delahunt B; Members of the ISUP Immunohistochemistry in Diagnostic Urologic Pathology Group. Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in the kidney tumors: report from the International Society of Urologic Pathology consensus conference. Am J Surg Pathol. 2014 Aug;38(8):e35-49. doi: 10.1097/PAS.0000000000000258. PMID: 25025368.

6. Rini BI, McKiernan JM, Chang SS, et al.Kidney en Amin MB editor. AJCC Cancer staging Manualk 8ª edition. Springer; 2017, pp739-48

7. Trpkov K, Williamson SR, Gill AJ, Adeniran AJ, Agaimy A, Alaghehbandan R, Amin MB, Argani P, Chen YB, Cheng L, Epstein JI, Cheville JC, Comperat E, da Cunha IW, Gordetsky JB, Gupta S, He H, Hirsch MS, Humphrey PA, Kapur P, Kojima F, Lopez JI, Maclean F, Magi-Galluzzi C, McKenney JK, Mehra R, Menon S, Netto GJ, Przybycin CG, Rao P, Rao Q, Reuter VE, Saleeb RM, Shah RB, Smith SC, Tickoo S, Tretiakova MS, True L, Verkarre V, Wobker SE, Zhou M, Hes O. Novel, emerging and provisional renal entities: The Genitourinary Pathology Society (GUPS) update on renal neoplasia. Mod Pathol. 2021 Jun;34(6):1167-1184. doi: 10.1038/s41379-021-00737-6.

Epub 2021 Feb 1. Erratum in: Mod Pathol. 2021 May;34(5):1037. doi: 10.1038/s41379-021-00775-0. PMID: 33526874.

8. Trpkov K, Hes O, Williamson SR, Adeniran AJ, Agaimy A, Alaghehbandan R, Amin MB, Argani P, Chen YB, Cheng L, Epstein JI, Cheville JC, Comperat E, da Cunha IW, Gordetsky JB, Gupta S, He H, Hirsch MS, Humphrey PA, Kapur P, Kojima F, Lopez JI, Maclean F, Magi-Galluzzi C, McKenney JK, Mehra R, Menon S, Netto GJ, Przybycin CG, Rao P, Rao Q, Reuter VE, Saleeb RM, Shah RB, Smith SC, Tickoo S, Tretiakova MS, True L, Verkarre V, Wobker SE, Zhou M, Gill AJ. New developments in existing WHO entities and evolving molecular concepts: The Genitourinary Pathology Society (GUPS) update on renal neoplasia. Mod Pathol. 2021 Jul;34(7):1392-1424. doi: 10.1038/s41379-021-00779-w. Epub 2021 Mar 4. PMID: 33664427.

9. Henrinksen K, Meeham S, Chang A. Nonneoplastic kidney diseases in adult tumor nephroureterectomy specimens: common, harmful, yet unapreciated. Arch Pathol Lab Med. 2009 133(7):1012-1025. doi: 10.5858

# Actualización de las recomendaciones para diagnóstico de piezas de vejiga y vía urinaria

**Eugenia García Fernández[1], Ainara Azueta Etxebarria[2], Adriana Katherine Calapaquí Terán[3]**

1. *Hospital Universitario La Paz, Madrid*
2. *Hospital Universitario Basurto, Bilbao*
3. *Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander*

## INTRODUCCIÓN

El carcinoma vesical y de la vía urinaria no es una enfermedad única sino un grupo de distintos tipos de tumores. La neoplasia puede estar limitada al urotelio como lesión plana (carcinoma in situ) o lesión papilar (CU papilar) no infiltrante (Ta) o infiltrar la lámina propia (T1). La gran mayoría (más del 95 %) de los tumores de vejiga y vía urinaria (uretra/uréter/pelvis/vejiga) corresponden a carcinomas de origen urotelial. A los estadios Tis, Ta y T1 se los denomina carcinoma urotelial no músculo infiltrante (CUNMI). Los tumores de alto grado tienen alto potencial de infiltración. Un 25 % de los carcinomas de vejiga invaden las capas musculares propias de la vejiga (T2) o más allá (T3 y T4) y a los tumores de este grupo se los denomina carcinomas uroteliales músculo infiltrante (CUMI). Este grupo tiene más de 50 % de probabilidades de desarrollar metástasis y tienen un 50 % de supervivencia a 5 años. En la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se incluyen tumores benignos, dado que en el mismo paciente se pueden ver un espectro de lesiones benignas a tumores malignos (sincrónicos o en el transcurso de la enfermedad). Se reconocen subtipos (antes llamados variantes) y diferenciación divergente y su presencia se debe documentar en el informe final.

Es recomendable que las muestras se envíen en fresco, lo que permite la adecuada apertura y fijación de las piezas, como también la selección del material para estudios moleculares y banco de tumores. La toma de muestras no debe interferir con el diagnóstico anatomopatológico.

## ESTUDIO MACROSCÓPICO BIOPSIAS Y PIEZAS DE VEJIGA

### Resección transuretral de vejiga (RTU)

La historia clínica es importante en la valoración de las biopsias de vejiga. Los antecedentes pueden influenciar en la interpretación de las muestras, por lo que es recomendable que los urólogos incluyan la siguiente información:

- Hallazgos en la cistoscopia: lesión plana, sólida o papilar.
- Antecedentes: tumor primario o recaída.
- Localización, tumor único o múltiple.

- Enfermedades previas relacionadas: litiasis, infecciones, portador de sonda, etc.
- Tratamientos previos: BCG, cirugía, quimioterapia, inmunoterapia o radioterapia.

Es recomendable incluir la totalidad del material enviado. Si el material recibido no puede incluirse totalmente (no existe consenso en la literatura respecto al número mínimo de bloques), es recomendable confirmar la presencia de capas musculares propias de la vejiga al microscopio y si no se identifican incluir el resto del material. Si en el muestreo inicial no se observa invasión o la invasión es superficial, o se observan variantes divergentes como adenocarcinoma, se recomienda incluir el resto del tejido para excluir la infiltración de la muscular propia.

### Pieza de cistectomía radical

Actualmente la quimioterapia neoadyuvante seguida de cistectomía radical es el tratamiento estándar recomendado para los pacientes con cáncer de vejiga músculo invasivo, no metastásico, que son elegibles para el cisplatino, en estos casos en casi un 50 % no se observa tumor residual. Aunque es más frecuente en las piezas tras tratamiento, también se observan casos de ausencia de tumor residual en pacientes solo tras cirugía (RTU). El estadio tumoral, los márgenes quirúrgicos y los ganglios linfáticos son los predictores más importantes de supervivencia post-cistectomía. De esto se deriva que debemos conocer el TNM y se debe tallar la pieza adecuadamente.

El tallado se realizará de forma diferente si observamos o no tumor macroscópico.

**Sin tumor residual macroscópico:** A la apertura se debe localizar el área de resección previa y realizar inclusión total de la misma con un margen de seguridad de al menos un centímetro, además se deben muestrear ampliamente todas las caras de la vejiga. Dado que la respuesta patológica completa (pCR) es un factor independiente relacionado con una excelente supervivencia a largo plazo, y la supervivencia global a los 5 años es del 80 %, se postula la inclusión total de la pieza quirúrgica, en bloques o macrobloques, dividiendo la pieza en dos (pared anterior y posterior).

**Con tumor residual macroscópico:** A la apertura se observarán lesiones a nivel de la mucosa, que se medirán y describirán (lesión exofítica, ulcerada, plana, etc.). Posteriormente se realizarán cortes paralelos al eje de mayor tamaño del tumor para valorar la infiltración macroscópica de las capas musculares propias de la vejiga o del tejido adiposo peri vesical. Se incluirán cortes representativos de áreas alejadas del tumor vesical que incluya paredes laterales, la cúpula y el trígono (según esquema de tallado macroscópico de la vejiga). Se incluyen márgenes quirúrgicos de resección (ureterales y uretra). Si existe un segmento largo de uréter, se deben incluir cortes de la zona media.

## ESTUDIO MICROSCOPICO Y DIAGNÓSTICO DE BIOPSIAS Y PIEZAS DE VEJIGA

### Resección transuretral de vejiga (RTU)

- Localización del tumor: trígono, pared lateral derecha, pared lateral izquierda, pared anterior, pared posterior, cúpula, otros.
- Datos microscópicos e informe diagnóstico:
- **Tipo histológico del tumor:** en la última clasificación de la OMS (2022) se cambia la nomenclatura de variante histológica a subtipo histológico, dado que el término de «variante» se usa frecuentemente para denominar alteraciones genómicas. El carcinoma urotelial puede presentar distintos subtipos histológicos en una misma lesión y zonas de diferenciación divergente. Los distintos subtipos histológicos se diagnostican atendiendo a la clasificación de la OMS (Tabla 1) en su edición más reciente (2022, 5º edición). Los subtipos de carcinoma urotelial; si presente especificar porcentaje. Hay subtipos histológicos con histología

«decepcionantemente blanda» como la variante en nidos, con comportamiento agresivo (similar al carcinoma urotelial convencional), que plantea diagnóstico diferencial con patología benigna (Figura 1). La guía NCCN, desde 2021, incluye los subtipos histológicos micropapilar, plasmocitoide y sarcomatoide junto a la invasión linfovascular y la invasión de la uretra prostática características de alto riesgo con preferencia de cistectomía como tratamiento en estos pacientes, de ahí la importancia en especificar los subtipos histológicos. Esta indicación se mantiene en la última versión de la NCCN para el carcinoma vesical (NCCN v6.2024).

**Figura 1**. Carcinoma urotelial subtipo en nidos pequeños (1.A) y en nidos grandes (1.B) infiltrando en ambos casos las capas musculares propias de la vejiga.

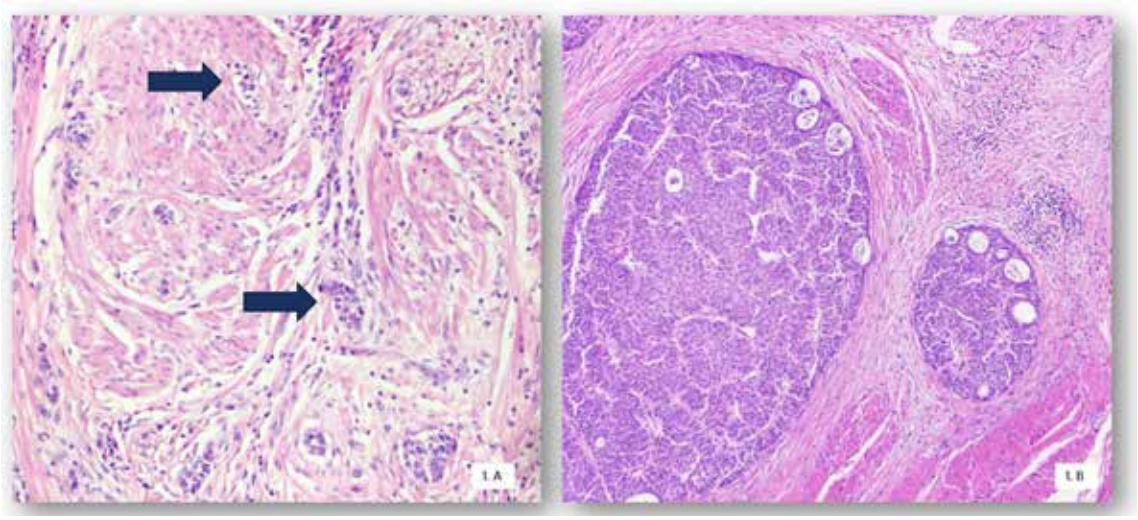


**Tabla 1.** Clasificación OMS 2022 (Urinary and male genital tumors 5th ed.) de tumores del tracto urinario:

| **TUMORES UROTELIALES** |
|---|
| **Neoplasias uroteliales no invasivas** |
| Papiloma urotelial/Papiloma urotelial invertido |
| Neoplasia papilar urotelial de bajo potencial de malignidad |
| Carcinoma urotelial papilar no infiltrante, bajo grado |
| Carcinoma urotelial papilar no infiltrante, alto grado |
| Carcinoma urotelial in situ |
| **Neoplasias uroteliales infiltrantes** |
| Carcinoma urotelial infiltrante: |
| CU convencional |
| CU con diferenciación escamosa |
| CU con diferenciación glandular |
| CU con diferenciación trofoblástica |
| CU en nidos. |
| CU tubular y microquístico |
| CU micropapilar |
| CU tipo linfoepitelioma |
| CU plasmocitoide |
| CU de células gigantes |
| CU rico en lípidos |
| CU de células claras (rico en glucógeno) |

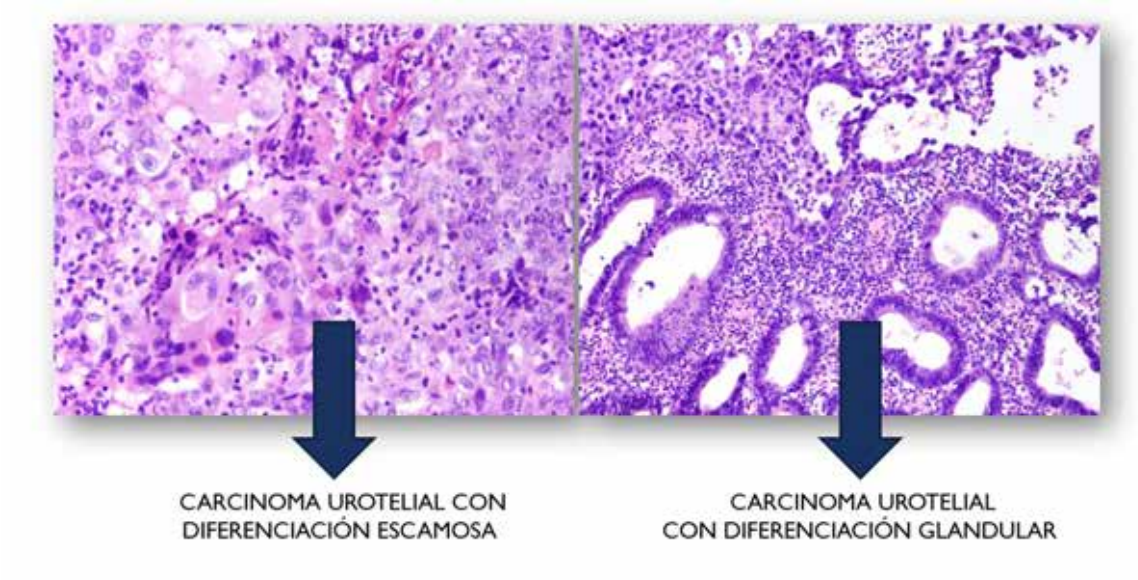
| |
|---|
| CU sarcomatoide<br>CU pobremente diferenciado |
| **Neoplasias escamosas del tracto urinario** |
| Papiloma escamoso<br>Carcinoma verrucoso de la vejiga<br>Carcinoma escamoso puro del tracto urinario |
| **Neoplasias glandulares** |
| Adenoma velloso<br>Adenocarcinoma, NOS |
| **Neoplasias uracales y diverticulares** |
| Carcinoma uracal<br>Carcinoma diverticular |
| **Neoplasias uretrales** |
| Adenocarcinoma de la glándula de Littre de la uretra<br>Adenocarcinoma de la glándula de Skene de la uretra<br>Adenocarcinoma de la glándula de Cowper de la uretra |
| **Tumores de tipo Mulleriano** |
| Adenocarcinoma de células claras del tracto urinario<br>Carcinoma endometriode del tracto urinario |

Los carcinomas uroteliales tienen una gran capacidad para diferenciación divergente (Figura 2):

- **Diferenciación escamosa:** definida por la presencia de puentes intercelulares, y/o queratinización, se observa en un 30-40 % de los carcinomas uroteliales. El diagnóstico de carcinoma epidermoide, se reserva para lesiones puras sin componente urotelial (incluido el carcinoma in situ). El significado clínico de la diferenciación escamosa no está claro (Moschini et al). Se ha publicado que es un factor pronóstico adverso en pacientes con cistectomía radical. En RTU se ha asociado a mayor incidencia de invasión muscular y extensión extravesical, pero no disminución de la supervivencia. En los informes incluimos el porcentaje de diferenciación escamosa.
- **Diferenciación glandular:** menos frecuente que la escamosa. Se define como la presencia de verdaderos espacios glandulares dentro del tumor. La mayoría suele tener diferenciación enteroide. También se incluyen la diferenciación mucinosa (coloide) o en anillo de sello. No incluimos: espacios pseudoglandulares causados por necrosis o artefacto. Tampoco la presencia de mucina intracitoplasmática. El diagnóstico de adenoarcinoma se reserva para tumores puros. El significado clínico todavía es incierto. Se ha asociado a una peor respuesta a la quimioterapia. En RTU se asoció a una mayor infiltración de las capas musculares propias y extensión extravesical, pero no a la supervivencia (Wasco et al). En los informes incluimos el porcentaje de diferenciación glandular.
- **Grado histológico:** la clasificación actual de la OMS 2022 divide los carcinomas uroteliales en bajo y alto grado, descrita inicialmente en la OMS 2004. Sin embargo, el uso de la clasificación de la OMS de 1973 que divide en G1, G2 y G3 mantiene su vigencia. Las guías de la National Comprehensive Cancer Network (NCCN Guidelines®) para el tratamiento del cáncer de vejiga no músculo infiltrante basan el tratamiento en la clasificación de OMS 2004 (alto y bajo grado histológico). Las guías europeas de urología actualizadas en abril de 2024 recomiendan el uso de ambas clasificaciones, OMS 1973 y OMS 2004/2022. Mientras que la clasificación en tres niveles: bajo grado, alto grado G2 y alto grado G3 podría considerarse la alternativa más prometedora. En resumen, se pueden usar ambas clasificaciones o consensuar en los comités de tumores de cada centro la clasificación a utilizar. La OMS 2022 recomienda gradar en base

al componente de mayor grado si es igual o más del 5 % del tumor. Si el componente de alto grado es inferior al 5 % aunque no cambie el grado debe referenciarse.

**Figura 2.** Ejemplos de carcinoma urotelial con diferenciación escamosa y glandular.




- **Extensión tumoral**: Tumor infiltrante que afecta: Lámina propia, capa muscular propia.
- **Estadio tumoral (AJCC, 8º edición):** Ta/T1/T2. Estudios retrospectivos han demostrado que la subestadificación de los carcinomas que infiltran la lámina propia (T1) tiene valor pronóstico. Existen distintos sistemas para valorarla y las OMS y la AJCC recomiendan la subestadificación sin definir cuál es el sistema optimo. Han pasado más de 30 años desde que se publicaron las primeras series sobre el subnivel de invasión en la lámina propia de los carcinomas uroteliales de alto grado. La invasión profunda conlleva un elevado riesgo de progresión, 30-35 % de casos progresan, frente a los casos de invasión superficial, por encima de la muscularis mucosae, en los que la progresión se encuentra alrededor del 10 %, por lo que para la mayoría era importante tener en cuenta el nivel de infiltración en el manejo del paciente. Son distintos los métodos empleados por distintos autores; mientras algunos autores se basan en medir el nivel de invasión (Bertz S et al; Bas W G van Rhijn et al), otros prefieren emplear la muscularis mucosae o el plexo vascular de la lámina propia para obtener un sistema de doble subdivisión (encima o debajo del plexo vascular (T1a-T1b) o triple división (T1a por encima del plexo vascular, T1b alcanzan el plexo vascular y T1c para los carcinomas que sobrepasan el plexo vascular) (Trias et al; Raspollini et al; Compérat et al).
- En las anteriores ediciones de este libro blanco ya se incluyó esta recomendación. Las últimas ediciones de la AJCC (8ª Ed, 2017) y de la OMS (2022) acuerdan que la subestadificación T1 tiene valor pronóstico y la recomiendan encarecidamente, sin consensuar el método a emplear.
- **Carcinoma urotelial in situ:** presente/ausente. Sin tratamiento, aproximadamente un 54 % de los pacientes con carcinoma in situ progresan e infiltran, por lo que es importante referenciarlo.
- **Estudios complementarios realizados**: técnicas de inmunohistoquímica, moleculares, otras técnicas.

**Pieza de cistectomía radical**

- **Tratamiento preoperatorio:** resección transuretral, Bacillus Calmette-Guerin (BCG), quimioterapia intravesical, quimioterapia sistémica, radioterapia, otros.
- **Localización del tumor:** trígono, pared lateral derecha, pared lateral izquierda, pared anterior, pared posterior, cúpula, otros.

- **Patología coexistente:** adenocarcinoma de próstata, carcinoma urotelial que afecta uretra, ductos prostáticos y acinos sin invasión estromal, cambios regenerativos, cambios asociados a tratamiento, metaplasia escamosa, cistitis, otros.
- **Estudios complementarios:** no se realizaron, se realizaron: especificar pruebas y resultados.
- **Procedimiento:** cistectomía parcial, simple, radical (mujer), cistoprostatectomía (hombre), diverticulectomía, exanteración anterior (mujer), uretrectomía, linfadenectomía.
- **Estructuras acompañantes:** útero, vagina, trompas (lateralidad), ovarios (lateralidad), uréteres (lateralidad), próstata, vesículas seminales, uretra peneana.
- **Dimensión máxima del tumor:** no se visualiza, no hay tumor infiltrante, invade la pared de la vejiga, invade el tejido adiposo perivesical, invade la superficie peritoneal, otras estructuras.
- **Datos microscópicos que figurarán en el informe diagnóstico:**
- **Tipo histológico del tumor**: atendiendo a la clasificación de la OMS en su edición más reciente. Subtipos de carcinoma urotelial, si presente especificar porcentaje.
- **Carcinoma in situ:** presente/ausente.
- **Grado histológico:** similar a lo descrito en RTU de vejiga.
- **Extensión tumoral**: indicando invasión o no de las estructuras anatómicas presentes en la pieza:
  - Sin evidencia de tumor primario
  - Tumor infiltrante que afecta: Lámina propia, muscular propia (mitad interna, mitad externa), tejido adiposo perivesical (microscópica, macroscópica), Estructuras adyacentes (estroma prostático, vesículas seminales, útero, vagina, anejos, pelvis, pared abdominal, recto, otros).
- **Invasión linfovascular:** presente, ausente, indeterminada.
- **Estado de los márgenes:** libres, afectos (especificar micro o macroscópicamente e in situ o infiltrante).
- **Ganglios linfáticos:**
  - Número de ganglios examinados
  - Número de ganglios infiltrados
  - Tamaño del foco metastásico mayor, en mm
  - Presencia de extensión extranodal
  - Localización de los ganglios afectos
- Metástasis confirmadas a otros órganos.
- **Respuesta a tratamiento previo**: La valoración de la respuesta a los tratamientos previos (neoadyuvancia) es necesario en las piezas de cistectomía. Fleischmann et al, proponen en 2014 el Grado de regresión tumoral o TRG que se divide en 3:
  - TRG1: ausencia de tumor viable en el lecho tumoral.
  - TRG2: células tumorales menos del 50 % del lecho tumoral.
  - TRG3: células tumorales más del 50 % del lecho tumoral.

  En revisiones posteriores (Brimo et al; Gronostaj et al) los autores han llegado a diferentes conclusiones en relación entre TRG y pronóstico. Sin embargo, TRG es un sistema fácil de utilizar con buena reproducibilidad.
- **Estadificación anatomopatológica** (TNM, última edición vigente de la AJCC)

## ESTUDIO DE TUMORES DE PELVIS RENAL Y URETER

**Estudio macroscópico:** El tallado se realiza tras la fijación en formol 24-48 horas. Se incluyen márgenes quirúrgicos de resección (margen distal del uréter, margen vascular y del hilio renal). Se localiza el tumor o tumores en uréter, pelvis renal o cálices renales. Es frecuente que los tumores sean multicéntricos por lo que hay que referir la localización. Se mide el tumor y se describe la extensión macroscópica de infiltración (pared, tejido periureteral/peripélvico, parénquima renal, grasa perirrenal u otras estructuras). La descripción macroscópica debe contener la siguiente información

- Dimensiones y peso de la pieza de nefrectomía.
- Focalidad: unifocal o multifocal.
- Localización del tumor: uréter, pelvis renal, cáliz superior, medio o inferior.
- Dimensiones del tumor.
- Características morfológicas del tumor:
  - Límites bien o mal definidos.
  - Si es sólido o excrecente.
  - Presencia de necrosis macroscópica.
  - Presencia de áreas sugestivas de diferenciación sarcomatoide.
  - Distancia del tumor con los márgenes de resección.
  - Extensión a la grasa periureteral/perirrenal presente.
  - Identificación de los bloques.

**Estudio microscópico y diagnóstico**

- **Tratamiento previo:** Bacilo de Calmette-Guérin (BCG), quimioterapia local, radioterapia, quimioterapia sistémica.
- **Lesiones epiteliales asociadas**.
- **Procedimiento quirúrgico:** nefroureterectomía, ureterectomía parcial, ureterectomía total, ureterectomía con cistectomía, ureterectomía con cistroprostatectomía.
- Otras muestras recibidas: especificar muestra si se recibe.
- **Focalidad del tumor:** unifocal o multifocal.
- **Dimensión máxima del tumor:** del tumor más grande, sin son multifocales.
- **Localización macroscópica del tumor:** no se identifica tumor macroscópicamente, se localiza en uréter, pelvis o caliz renal.
- **Extensión macroscópica de la infiltración**: no visible macroscópicamente, invade la pared, infiltración del tejido periureteral/peripélvico, invasión del parénquima renal, grasa perirrenal y estructuras adyacentes.
- **Tipo histológico del tumor**: según última clasificación OMS.
- Subtipo histológico si procede, especificar porcentaje.
- **Carcinoma in situ:** presente/ausente.
- **Grado histológico del tumor:** clasificación OMS 2004/2022 (bajo grado, alto grado) o ambas clasificaciones OMS 1973 (G1/G2/G3) o OMS 2004/2022.
- **Extensión microscópica de la infiltración:** no visible macroscópicamente, invade la lámina propia, muscular propia, infiltración del tejido periureteral/peripélvico (seno renal), invasión del parénquima renal, grasa perirrenal y estructuras adyacentes.
- **Invasión linfovascular**: presente/ausente.
- **Estado de los márgenes**: respetados, si infiltran referir localización y si corresponde a carcinoma in situ o infiltrante.
- **Estado de los ganglios linfáticos regionales:**
  - Número total de ganglios examinados
  - Número de ganglios infiltrados.
  - Tamaño del foco metastásico mayor, en mm
  - Presencia de extensión extranodal
  - Localización de los ganglios linfáticos afectos, especificar
- **Patología coexistente:** parénquima renal no neoplásico
- **Metástasis a distancia confirmadas histológicamente.**
- **Estadificación anatomopatológica** (TNM, última edición vigente de la AJCC)
- **Estudios complementarios:** No se realizaron, se realizaron: especificar pruebas y resultados.

## ESTUDIO DE BIOMARCADORES EN CARCINOMA UROTELIAL

Los carcinomas uroteliales se pueden clasificar en subtipos moleculares basados en ARN y expresión por inmunohistoquímica. Estos sistemas de clasificación reflejan la heterogeneidad intrínseca del carcinoma vesical, que aumenta su complejidad a medida que el tumor progresa y se ve influenciado por la celularidad inmune, las interacciones epitelio-mesénquima, la hipoxia y el tratamiento. Esto sugiere que el subtipo molecular será transitorio en distintos momentos de la enfermedad. La heterogeneidad propia del tumor le da la habilidad de crecer, escapar de la vigilancia inmune, crear resistencia a los tratamientos (innata o adquirida) y metastatizar (Lokeshwar et al).

Existen distintas clasificaciones moleculares del carcinoma urotelial y superposición entre ellas. El objetivo de los subtipos moleculares es estratificar a los pacientes de acuerdo al pronóstico y evolución. Un resumen de las mismas se describe en los artículos de revisión de Robertson et al de 2017 y Aurélie Kamoun y colaboradores en 2020, que evaluan 1750 tumores y llegan al consenso de 6 grupos moleculares.

En la revisión de Robertson, se dividen los CU en **Luminales** (CK20, GATA3 y FOXA1 positivos) y **Basales/escamosos** (CK5, 6 y 14 +; negativos frente a GATA3 y FOXA1) y el grupo **Neuronal**. El grupo de luminales a su vez; se divide en 3 subgrupos (Luminal-papilar, luminal-infiltrada y luminal). El **luminal-papilar** es el que mayor número de alteraciones tiene en FGFR3 y los **luminales-infiltrados** junto con los **basales/escamosos** los que se benefician de terapia basadas en cisplatino y anti-PD-L1/PD1.

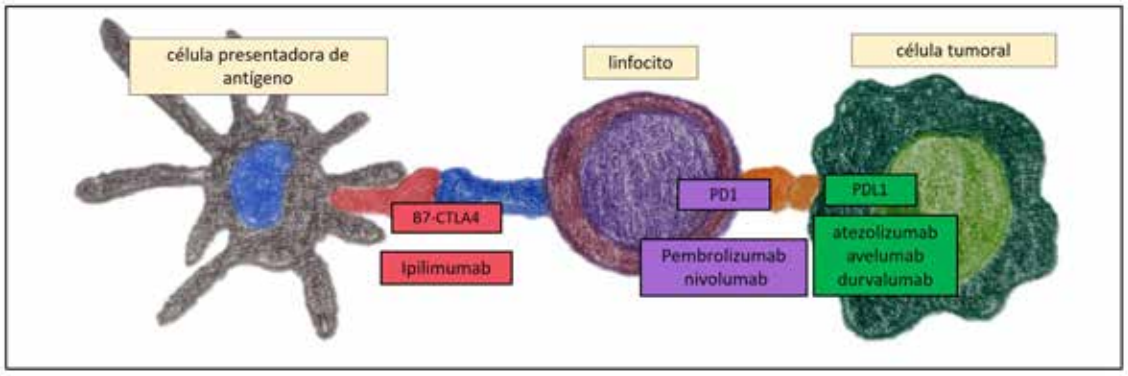
En el trabajo de Kamoun et al, se describen 6 clases: **Luminal papilar, Luminal no especificada, Luminal inestable, rica en estroma, basal/escamosa y tipo neuroendocrina**. De estas la **luminal papilar** es la que asocia alteraciones en FGFR3, la variante micropapilar al **luminal no especificada** y alteraciones en ERBB2 y p53 en los **luminales inestables.** Los **basales/escamosos** muestran alteraciones en EGFR.

Estas clasificaciones buscan establecer qué tipo de tumor se puede beneficiar de un tratamiento dirigido para determinar la terapia óptima para cada paciente y la secuencia de tratamiento ideal.

### Inhibidores de puntos de control inmune: PD-L1/PD1

La inmunoterapia es una estrategia terapéutica atractiva en el tratamiento de los tumores sólidos. Múltiples anticuerpos dirigidos a CTLA-4 y PD-1/PD-L1 han sido aprobados en cáncer avanzado. En el caso del carcinoma urotelial estos tratamientos incluyen inhibidores de PD-L1 (atezolizumab, avelumab y durvalumab); anti PD1 (pembrolizumab y nivolumab) e inhibidores de CTLA-4 (ipilimumab) (Figura 5). Los inhibidores de puntos de control inmunitarios (IPC) han tenido un impacto enorme en el manejo del carcinoma urotelial avanzado. A pesar de esto sólo una minoría de los pacientes se benefician de su tratamiento. Y de estos entre un 15 a 25 % pueden tener una respuesta duradera, por lo que es importante identificar a los pacientes qué se van a beneficiar de esta terapia.

**Figura 5.** Esquema de inhibidores de punto de control inmunitarios.




En los distintos ensayos clínicos desarrollados se utilizaron técnicas de inmunohistoquímica frente a PD-L1, basadas cada una en clon especifico de PD-L1, protocolo de evaluación y plataforma para realizar la técnica. Por lo tanto, la sensibilidad para la detección de positividad en las células tumorales e inmunes varía entre los distintos anticuerpos PD-L1. Se han realizado estudios de comparación entre los distintos anticuerpos observándose buena concordancia entre 28-8, 22C3 y SP263 para la célula tumoral. SP142 es menos sensible para las células tumorales (CT). Cuatro métodos distintos han sido desarrollados para la determinación de PD-L1, que usan distintos numeradores (células tumorales PD-L1 positivas y/o células inmunes) y denominadores (células tumorales y/o células inmunes). Los puntos de corte para evaluar la positividad de la técnica también difieren dependiendo del ensayo clínico (CPS ≥ 10 clon 22C3; TPS/CI ≥ 25 % con SP263; TPS≥ 1 con 28,8 y CI ≥ 5 % con SP142).

La inconsistencia de PD-L1 como biomarcador en el carcinoma urotelial está probablemente en relación con los distintos tipos de test usados, diferentes clones, puntos de cortes utilizados y las poblaciones tumorales estudiadas (Miller et al).

Implementar la técnica de PD-L1 en los laboratorios de anatomía patológica es un desafío en cuanto a la selección del material (el carcinoma urotelial es una neoplasia heterogénea), tipo de test utilizado (SP142, 28-8, 22C3 y SP263) y método de evaluación de la técnica (CPS, TPS y CI) que cambia según el tratamiento que va a recibir el paciente. Por lo que es imprescindible una buena comunicación entre el oncólogo y patólogo.

La determinación de PD-L1 está indicada en todos los pacientes en los que se prevé un tratamiento con inmunoterapia cuya indicación dependa de la positividad para PD-L1 por inmunohistoquímica. Las indicaciones de inmunoterapia pueden cambiar a medida que se aprueban nuevos fármacos; como también los puntos de cortes y la manera de evaluar la positividad del marcador.

**Informe de determinación de PD-L1**

El grupo de uro patología de la Sociedad Española de Anatomía Patológica en un artículo de revisión en 2023, recomienda que en el informe de resultado de PD-L1 de anatomía patológica conste la siguiente información (Lopez-Beltran et al)

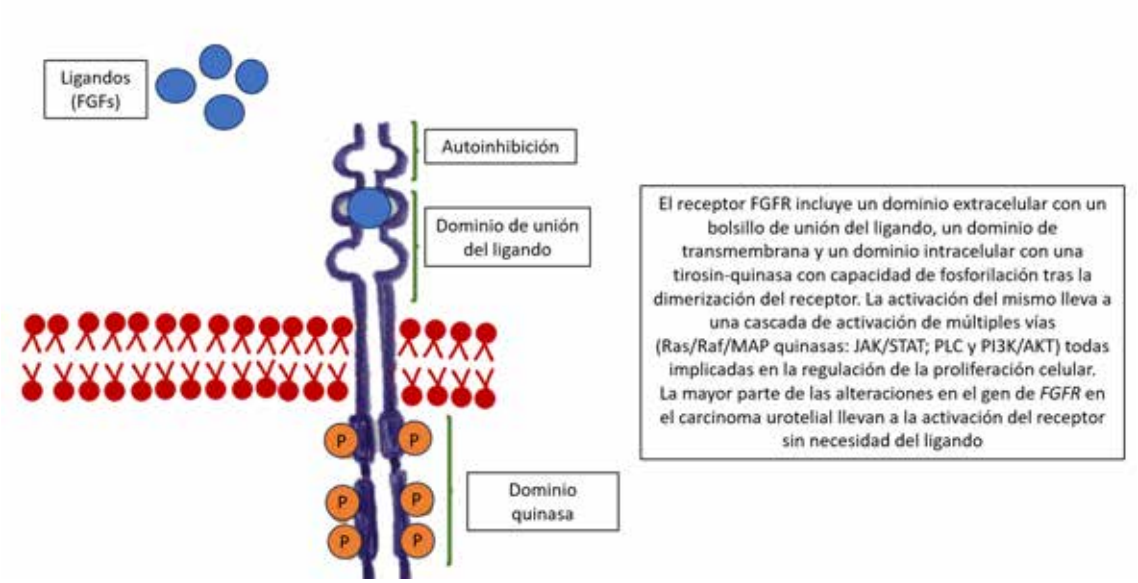
- Tipo histológico del tumor: Si la muestra procede del tumor primario (RTU o cistectomía) o de metástasis (especificar la localización) y los controles de la técnica de inmunohistoquímica.
- Tipo de anticuerpo utilizado: 28-8, 22C3, SP263 y SP142.
- Plataforma de inmunohistoquímica: Dako, Ventana.
- Porcentaje de células tumorales e inmunes positivas y CPS si se considera oportuno.

**Inhibidores de FGFR**

La vía de FGFR involucra a varias proteínas de transmembrana con dominios intracelulares tirosina quinasa. Estas proteínas derivan de la expresión de cuatro genes FGFR1-4. FGFR3 específicamente, codifica una proteína que está involucrada en el crecimiento celular, angiogénesis y proliferación. Alteraciones y fusiones de FGFR3 han demostrado que activan vías de MAPK y PI3K/AKT que juegan un rol en el desarrollo del cáncer y la progresión (Figura 6).

Los carcinomas uroteliales tienen una alta incidencia de mutaciones/alteraciones en FGFR. Cuatro subtipos de FGFR se han implicado en el carcinoma urotelial. Están involucrados en proliferación celular, diferenciación y síntesis esteroidea. Las alteraciones en FGFR3 dependiendo del estadio tumoral, ocurren en un 80 % de los carcinomas estadios Ta y se asocian con buen pronóstico. En estadios avanzados (T2 o más) se identifican mutaciones en un 10-20 % (Miller et al) y se describe una mayor incidencia de alteraciones en tumores del tracto urinario superior que en vejiga.

**Figura 6.** Esquema del receptor de FGFR.


Ligandos (FGFs)
Autoinhibición
Dominio de unión del ligando
Dominio quinasa
P
El receptor FGFR incluye un dominio extracelular con un bolsillo de unión del ligando, un dominio de transmembrana y un dominio intracelular con una tirosin-quinasa con capacidad de fosforilación tras la dimerización del receptor. La activación del mismo lleva a una cascada de activación de múltiples vías (Ras/Raf/MAP quinasas: JAK/STAT; PLC y PI3K/AKT) todas implicadas en la regulación de la proliferación celular. La mayor parte de las alteraciones en el gen de *FGFR* en el carcinoma urotelial llevan a la activación del receptor sin necesidad del ligando

**Anticuerpos conjugados: Nectina 4 y Trop-2**

Conjugados de drogas y anticuerpos son medicamentos emergentes diseñados como terapias dirigidas. Usan la especificidad del anticuerpo monoclonal dirigido a antígenos altamente expresados en células tumorales para mandar el agente citotóxico. En comparación con la quimioterapia tradicional, los anticuerpos conjugados ofrecen mayor selectividad frente al tumor, aumentan la eficacia y reducen la toxicidad.

**Nectina-4**: molécula de adhesión celular transmembrana. Se expresa durante el desarrollo fetal en el embrión y la placenta y disminuye en la vida adulta. Se ha identificado como marcador de recaída tumoral y metástasis y se asocia con mal pronóstico en distintos tipos de carcinoma. La expresión de Nectina4 es heterogénea en los distintos subtipos moleculares de CU, con una expresión más alta en los tumores luminales y más baja en el tipo neuroendocrino (Bouleftour et al).

**Trop-2:** Glicoproteína de transmembrana que se expresa en varios tejidos tumorales. Trop-2 aumenta la expresión de Ki-67 y promueve la expresión de ciclinas D y E. La sobreexpresión de Trop-2 favorece la proliferación celular tumoral, diferenciación y metástasis a través de vías como JAK/STAT, Bax, Bcl-2, ERK y Akt, favorece la expresión de PARP1 lo que aumenta la replicación del ADN. La activación del dominio intracelular de Trop2, favorece la proliferación celular, induce la transición

epitelio-mesénquima, la invasión tumoral y la capacidad anti-apoptótica de las células tumorales (Jiang Y et al).

Están en desarrollo ensayos con Trop-2 en monoterapia y asociados a quimioterapia, inmunoterapia y quimio-inmunoterapia.

La expresión de Trop-2 y Nectina-4 es muy alta en el carcinoma urotelial convencional (mayor del 90 %). No es necesario determinar la expresión de Nectina-4 ni Trop-2 previo al inicio del tratamiento. La expresión esta disminuida en el carcinoma neuroendocrino de célula pequeña (0-10 %), es superior al 70 % en el carcinoma escamoso, glandular y menos del 50 % en el subtipo en nidos y micropapilar.

**Carga mutacional del tumor**

La carga mutacional es muy alta en el carcinoma urotelial, tercero detrás del cáncer de pulmón y melanoma. Una alta carga mutacional resulta en un incremento de neo-antígenos, aumentando la posibilidad de una respuesta inmune robusta con la inmunoterapia y se plantea como un biomarcador predictivo de respuesta, que todavía debe ser validado en futuros estudios (Jardim DL).

**HER2 y EGFR (HER1)**

La familia de receptores de factores de crecimiento epidérmico humano (HER) incluyen proteínas de la superficie celular que están implicadas en la carcinogénesis, proliferación celular, invasión y metástasis. Los receptores HER1 (EGFR/Erb-1) y HER2 (ErbB-2) juegan un rol importante en la regulación de la proliferación en el carcinoma urotelial, por lo que son posibles dianas terapéuticas dirigidas. El uso de biomarcadores es controvertido por la heterogeneidad en la expresión entre distintos tipos histológicos de carcinoma urotelial y la baja concordancia entre el nivel proteico y la amplificación génica en estos tumores. En pacientes con carcinoma musculo invasivo la incidencia de expresión de HER1 es del 55 % y la de HER2 en un 37 %. Todavía están en desarrollo ensayos prospectivos con un mayor número de pacientes para determinar la respuesta a inhibidores de estos receptores en el contexto del carcinoma urotelial, sobre todo con anticuerpos monoclonales conjugados unidos a un agente citotóxico (Bellmunt J.) (Cimadamore A).

**Tabla 2.** Resumen de biomarcadores en carcinoma urotelial.

| BIOMARCADOR | RESUMEN |
|---|---|
| **PD-L1** | Actualmente se usa en relación al tratamiento Nivolumab (Positividad por inmunohistoquímica (TPS ≥ 1 %). |
| **FGFR3** | Hay que realizar estudio molecular para despistaje de alteraciones moleculares. Predictivo de respuesta a inhibidores de FGFR. |
| **TMB (carga tumoral)** | No ha demostrado correlación con supervivencia global<br>Correlación con respuesta a inmunoterapia |
| **Nectina4 y Trop 2** | No es necesario realizar actualmente su determinación por inmunohistoquímica para iniciar tratamiento |
| **HER2** | No existe consenso en la valoración de HER2 en el carcinoma urotelial. Se utilizan los esquemas empleados en el carcinoma de mama |

**Bibliografía**


1. Grignon D, Brimo F, Comperat E, Delahunt B, Koch M, Lopez-Beltran A, Reuter V, Samaratunga H, Shanks J, Tsuzuki T, van der Kwast T, Varma M, Srigley JR (2018). Urinary Tract Carcinoma Histopathology Reporting Guide – Biopsy and Transurethral Resection Specimen. 1st edition. International Collaboration on Cancer Reporting; Sydney, Australia. ISBN: 978-1-925687-14-9.

2. Athanazio, D.A., Amorim, L.S., da Cunha, I.W. et al. Handling and pathology reporting guidelines for bladder epithelial neoplasms – recommendations from the Brazilian Society of Pathology / Brazilian Society of Urology / Brazilian Society of Clinical Oncology. Surg Exp Pathol 7, 8 (2024). https://doi.org/10.1186/s42047-024-00151-7

3. Version 6.2024, 01/17/25 © 2025 National Comprehensive Cancer Network® (NCCN®), All rights reserved. NCCN Guidelines®

4. Gontero P, Birtle A, Capoun O, Compérat E, Dominguez-Escrig JL, Liedberg F, Mariappan P, Masson-Lecomte A, Mostafid HA, Pradere B, Rai BP, van Rhijn BWG, Seisen T, Shariat SF, Soria F, Soukup V, Wood R, Xylinas EN. European Association of Urology Guidelines on Non-muscle-invasive Bladder Cancer (TaT1 and Carcinoma In Situ)-A Summary of the 2024 Guidelines Update. Eur Urol. 2024 Dec;86(6):531-549. doi: 10.1016/j.eururo.2024.07.027. Epub 2024 Aug 17. PMID: 39155194.

5. Beijert IJ, Cheng L, Liedberg F, Plass K, Williamson SR, Gontero P et al. International Opinions on Grading of Urothelial Carcinoma: A Survey Among European Association of Urology and International Society of Urological Pathology Members. Eur Urol Open Sci. 2023 May 10:52:154-165. PMID: 37284047; doi: 10.1016/j.euros.2023.03.019. eCollection 2023 Jun.

6. College of American Pathologyst. Protocol for the Examination of Cystectomy Specimens From Patients With Carcinoma of the Urinary Bladder. Version 4.2.0.0. June 2024.

7. Antonio Lopez-Beltrán, Pier Francesco Bassib, Michele Pavone-Macalusoc, Rodolfo Montironi. Handling and Pathology Reporting of Specimens with Carcinoma of the Urinary Bladder, Ureter, and Renal Pelvis. European Urology 45 (2004) 257–266.

8. Babjuk, M., Burger, M., Capoun, O., Cohen, D., Compérat, E. M., Dominguez Escrig, J. L., Gontero, P., Liedberg, F., Masson-Lecomte, A., Mostafid, A. H., Palou, J., van Rhijn, B. W. G., Rouprêt, M., Shariat, S. F., Seisen, T., Soukup, V., & Sylvester, R. J. (2022). European Association of Urology Guidelines on Non–muscle-invasive Bladder Cancer (Ta, T1, and Carcinoma in Situ). In European Urology (Vol. 81, Issue 1, pp. 75–94). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2021.08.010

9. Galsky, M. D., Guan, X., Banchereau, R., Wang, L., Zhu, J., Yu, H., Rishipathak, D., Hajaj, E., Herbst, R. H., Davis, I. D., Grande, E., Bamias, A., De Santis, M., Arranz, J. Á., Kikuchi, E., Zhang, J., Lee, C., Shen, X., Black, P. C., & Mariathasan, S. (2021). 658MO Cisplatin (cis)-related immunomodulation and efficacy with atezolizumab (atezo) + cisplatin- vs carboplatin (carbo)-based chemotherapy (chemo) in metastatic urothelial cancer (mUC). Annals of Oncology, 32, S682–S683. https://doi.org/10.1016/j.annonc.2021.08.054

10. Harik, L. R., Gladell, Paner, P., Hikmat, Al-Ahmadie, A., Allan, R. W., Amin, M. B., Mehmet, ;, Bilen, A., Bochner, B. H., Guo, C. C., Lopez-Beltran, A., Mckenney, J. K., Sangoi, A. R., Sirintrapun, ; S Joseph, Wadia, R., Wobker, S. E., & Zhou, M. (2023). Protocol for the Examination of Cystectomy Specimens From Patients With Carcinoma of the Urinary Bladder The following tumor types should NOT be reported using this protocol: Tumor Type Urachal Carcinoma Lymphoma (consider the Lymphoid Neoplasm protocols) Sarcoma (consider the Soft Tissue protocol) With guidance from the CAP Cancer and CAP Pathology Electronic Reporting Committees. www.cap.org/cancerprotocols

11. Harik, L. R., Gladell, ;, Paner, P., Hikmat, ;, Al-Ahmadie, A., Allan, R. W., Humphrey, P. A., Mckenney, J. K., Mckiernan, J. M., Olgac, S., Rao, P., Raspollini, M. R., & Srigley, J. R. (2023). Protocol for the Examination of Resection Specimens From Patients With Carcinoma of the Ureter and Renal Pelvis The following tumor types should NOT be reported using this protocol: Tumor Type Lymphoma (consider the Lymphoid Neoplasm protocols) Sarcoma (consider the Soft Tissue protocol) Renal cortical and medullary tumors (consider the separate Kidney protocol) With guidance from the CAP Cancer and CAP Pathology Electronic Reporting Committees. www.cap.org/cancerprotocols

12. López-Beltrán, A., González-Peramato, P., Sanz-Ortega, J., Prieto Cuadra, J. D., Trias, I., Luque Barona, R. J., Semidey, M. E., Maroto, P., & Algaba, F. (2023). Practical aspects of PD-L1 assessment in the treatment of urothelial carcinoma: Consensus of the uropathology group of the SEAP. In Revista Espanola de Patologia (Vol. 56, Issue 4, pp. 261–270). Ediciones Doyma, S.L. https://doi.org/10.1016/j.patol.2023.05.001

13. Miller, E. J., & Galsky, M. D. (2023). Precision Medicine in Urothelial Carcinoma: Current Markers to Guide Treatment and Promising Future Directions. In Current Treatment Options in Oncology (Vol. 24, Issue 12, pp. 1870–1888). Springer. https://doi.org/10.1007/s11864-023-01151-7

14. Protocol for the Examination of Biopsy and Transurethral Resection of Bladder Tumor (TURBT) Specimens From Patients With Carcinoma of the Urinary Bladder. (2023). www.cap.org/cancerprotocols.

15. Bertz S, Denzinger S, Otto W et al. Substaging by estimating the size of invasive tumour can improve risk stratification in pT1 urothelial bladder cancer-evaluation of a large hospital-based single-centre series. Histopathology. 2011 Oct;59(4):722-32. PMID: 22014053 doi: 10.1111/j.1365-2559. Version 6.2024, 01/17/25 © 2025 National Comprehensive Cancer Network® (NCCN®), All rights reserved. NCCN Guidelines®

16. Bas W.G. van Rhijn, Liyang Liu, Andr éN. Vis et al. Prognostic value of molecular markers, substage and European Organisation for theResearch and Treatment of Cancer risk scores in primary T1 bladder cáncer. BJU Int. 2012 Oct;110(8):1169-76. PMID: 22448597 DOI: 10.1111/j.1464-410X.2012.10996.x

17. Trias I, Orsola A, Español I et al. Carcinoma urotelial de vejiga estadio T1: subestadiaje, patrones morfológicos de invasión y su significado pronóstico. Actas Urol Esp.2007;31(9):1002-1008.

18. Raspollini MR, Montironi R, Mazzucchelli R et al. pT1 high-grade bladder cancer: histologic criteria, pitfalls in the assessment of invasion, and substaging. Virchows Arch. 2020 Jul;477(1):3-16. PMID: 32296929 doi: 10.1007/s00428-020-02808-6. Epub 2020 Apr 15.

19. Compérat E, Amin M.B, Epstein JI et al. The Genitourinary Pathology Society Update on Classification of Variant Histologies, T1 Substaging, Molecular Taxonomy, and Immunotherapy and PD-L1 Testing Implications of Urothelial Cancers. Adv Anat Pathol Volume 28, Number 4, July 2021. PMID: 34128484 DOI: 10.1097/PAP.0000000000000309.

20. Amin MB, Edge S, Greene F, Byrd DR, Brookland RK, Washington MK, Gershenwald JE, Compton CC, Hess KR, et al. (Eds.). AJCC Cancer Staging Manual (8th edition). Springer International Publishing: American Joint Commission on Cancer; 2017. ISBN 978-3-319-40617-6.

21. WHO Classification of Tumors. Urinary and Male Genital Tumours. Tumours of the urinary tract. 5th Edition. International Agency for Research on cáncer; 2022. ISBN-13: 978-92-832-4512-4.

22. Brimo F, Downes MR, Jamaspishvili T, Berman D, Barkan GA, Athanazio D, Abro S, Visram K, Yilmaz A, Solanki S, Hahn E, Siemens R, Kassouf W, Trpkov K. Prognostic pathological factors in radical cystectomy after neoadjuvant chemotherapy. Histopathology. 2018;73:732–40.

23. Moschini M, Shariat SF, Lucianò R, D'Andrea D, Foerster B, Abufaraj M, Bandini M, Dell'Oglio P, Damiano R, Salonia A, Montorsi F, Briganti A, Colombo R, Gallina A. Pure but Not Mixed Histologic Variants Are Associated With Poor Survival at Radical Cystectomy in Bladder Cancer Patients. Clin Genitourin Cancer. 2017 Aug;15(4):e603-e607. doi: 10.1016/j.clgc.2016.12.006. Epub 2016 Dec 14. PMID: 28040422.

24. Wasco MJ, Daignault S, Zhang Y, Kunju LP, Kinnaman M, Braun T, Lee CT, Shah RB. Urothelial carcinoma with divergent histologic differentiation (mixed histologic features) predicts the presence of locally advanced bladder cancer when detected at transurethral resection. Urology. 2007 Jul;70(1):69-74. doi: 10.1016/j.urology.2007.03.033. PMID: 17656211.

25. Robertson AG, Kim J, Al-Ahmadie H, Bellmunt J, Guo G, Cherniack AD, Hinoue T, Laird PW, Hoadley KA, Akbani R, Castro MAA, Gibb EA, Kanchi RS, Gordenin DA, Shukla SA, Sanchez-Vega F, Hansel DE, Czerniak BA, Reuter VE, Su X, de Sa Carvalho B, Chagas VS, Mungall KL, Sadeghi S, Pedamallu CS, Lu Y, Klimczak LJ, Zhang J, Choo C, Ojesina AI, Bullman S, Leraas KM, Lichtenberg TM, Wu CJ, Schultz N, Getz G, Meyerson M, Mills GB, McConkey DJ; TCGA Research Network; Weinstein JN, Kwiatkowski DJ, Lerner SP. Comprehensive Molecular Characterization of Muscle-Invasive Bladder Cancer. Cell. 2017 Oct 19;171(3):540-556.e25. doi: 10.1016/j.cell.2017.09.007. Epub 2017 Oct 5. Erratum in: Cell. 2018 Aug 9;174(4):1033. doi: 10.1016/j.cell.2018.07.036. PMID: 28988769; PMCID: PMC5687509.

26. Lokeshwar SD, Lopez M, Sarcan S, Aguilar K, Morera DS, Shaheen DM, et al. Molecular Oncology of Bladder Cancer from Inception to Modern Perspective. Vol. 14, Cancers. MDPI; 2022.

27. Bouleftour W, Sargos P, Magne N. Nectin-4: a Tumor Cell Target and Status of Inhibitor Development. Vol. 25, Current Oncology Reports. Springer; 2023. p. 181–8.

28. Jiang Y, Zhou H, Liu J, Ha W, Xia X, Li J, et al. Progress and Innovative Combination Therapies in Trop-2-Targeted ADCs. Vol. 17, Pharmaceuticals. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024.

29. Jardim DL, Goodman A, de Melo Gagliato D, Kurzrock R. The Challenges of Tumor Mutational Burden as an Immunotherapy Biomarker. Vol. 39, Cancer Cell. Cell Press; 2021. p. 154–73.

30. Bellmunt J, Werner L, Bamias A, Fay AP, Park RS, Riester M, et al. HER2 as a target in invasive urothelial carcinoma. Cancer Med. 2015 Jun 1;4(6):844–52.

31. Cimadamore A, Franzese C, Di Loreto C, Blanca A, Lopez-Beltran A, Crestani A, et al. Predictive and prognostic biomarkers in urological tumours. Vol. 56, Pathology. Elsevier B.V.; 2024. p. 228–38.

32. Gronostaj K, Czech AK, Fronczek J, Drobniak A, Okon K, Chlosta PL, Szczeklik W. The prognostic value of tumor regression grades combined with TNM classification in patients with muscle-invasive bladder cancer who underwent Neoadjuvant chemotherapy followed by radical cystectomy. Clin Genitourin Cancer. 2019;17:e1203-1.

# Actualización de las recomendaciones para diagnóstico de patología neoplásica del pene

**Isabel Trías Puig-Sureda[1], Rafael J. Luque Barona[2], Vanessa Moscoso López[2]**

1. *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clinic de Barcelona*
2. *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario de Jáen*

## RECOMENDACIONES DE ENVIO DE LA MUESTRA

Si bien la condición ideal de recepción de las muestras seria en fresco, para proceder a su manipulación inicial prefijación (véase abajo), en función de las características del hospital se podrán recibir en un contenedor con una cantidad adecuada de formaldehido, acorde a los procedimientos de envío y transporte de muestras de cada Unidad.

## ESTUDIO MACROSCOPICO

### Manipulación de los distintos tipos de piezas (muestras)

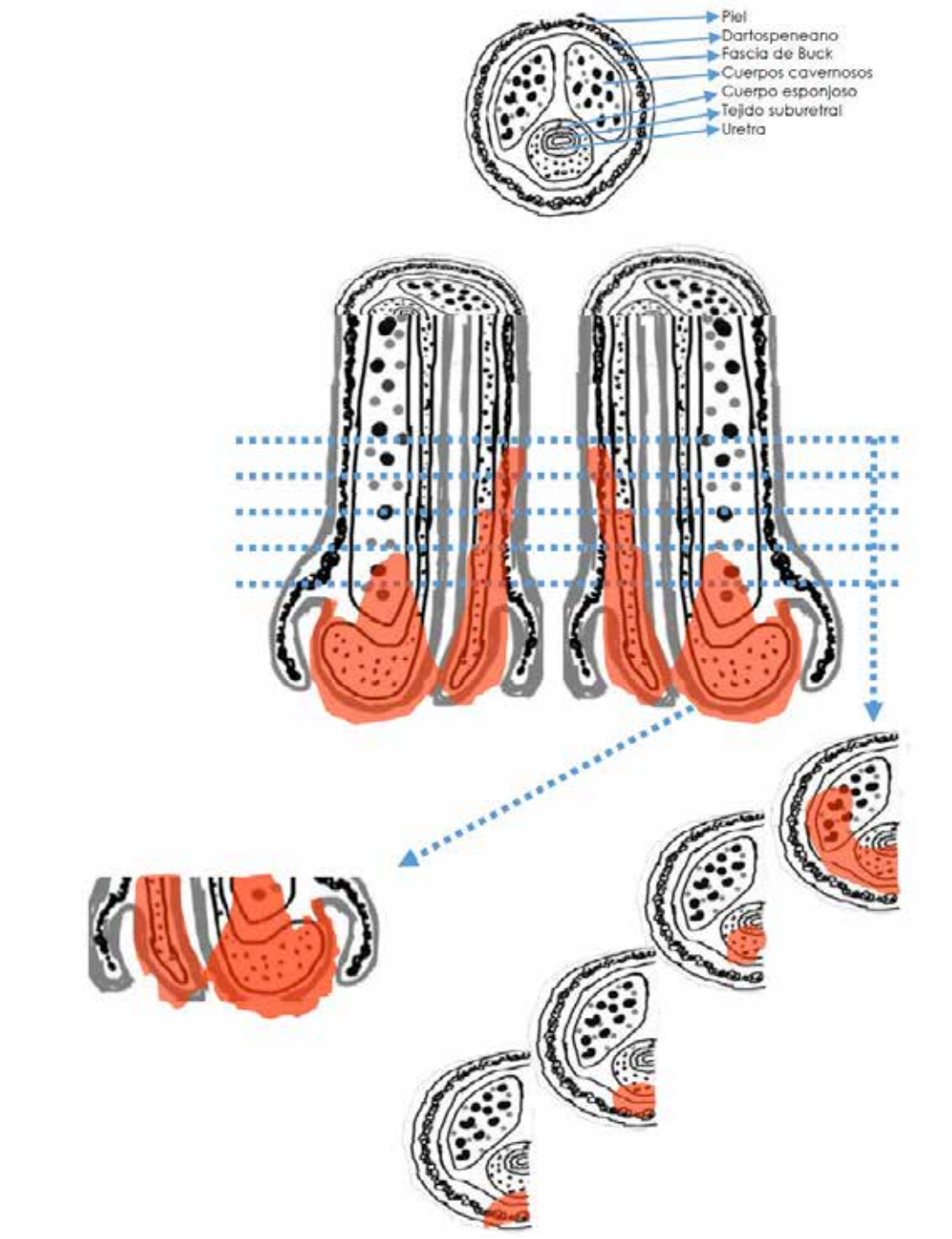
**Piezas de circuncisión:** Se tomarán las medidas en tres dimensiones, describiendo el aspecto externo, identificando la localización y características del tumor presente en la muestra para reflejarlas en la descripción macroscópica. Se recomienda identificar los márgenes mucoso y cutáneo con tinta de color diferente y realizar un procedimiento que permita la extensión de la muestra previa a la fijación (p.e. pinchar en una superficie plana) para posteriormente seccionar de forma completa en sentido vertical, incluyendo en su totalidad el espécimen.

**Piezas de penectomía (parcial o total):** De igual forma que en el apartado anterior, se tomaran las medidas de la pieza. Se identificará el tipo de pieza (glandectomía, falectomía parcial, total…) y se intentará reconocer la presencia de las estructuras anatómicas que deberían estar presentes en función del tipo de resección (p.e. si la pieza incluye cuerpos cavernosos, presencia o no de prepucio, identificar la uretra especialmente en su margen distal que suele retraerse y queda en un plano distinto al resto de estructuras).

A continuación, se separará mediante afeitado la sección correspondiente al margen de resección proximal, incluyendo la circunferencia uretral completa (Figura 1), la lámina propia periuretral, el cuerpo esponjoso, la albugínea, los cuerpos cavernosos, la fascia peneana, el dartos y la piel del tallo, por lo que debido a la retracción del tejido pueden ser precisas varias secciones que incluyan la totalidad de las estructuras. Tras la fijación completa de la muestra, si el tumor de gran tamaño y afecta la mayor parte del glande, se cortará la pieza longitudinalmente por la porción central usando el meato y la uretra proximal como referencias, sin realizar sondaje uretral. Posteriormente se procederá a separar las dos partes y realizar una sección seriada transversal de la pieza cada 2-3 mm (Figura 1). En caso de tumores

pequeños y lateralizados, se pueden realizar las secciones a partir de la porción central de los mismos. Es importante no separar el prepucio de la pieza hasta comprobar que no se encuentra afectado por el tumor y respetando el surco coronal (dejar un margen de unos tres milímetros). En caso de ser separado, se procesaría como en los casos de circuncisión (véase arriba).

**Figura 1.** Esquema del procesamiento de la pieza de penectomía 1. Sección transversal correspondiente al margen de resección proximal, con las estructuras anatómicas a considerar. 2. Sección longitudinal centrada en la uretra, mostrando la extensión de una neoplasia originada en glande que afecta la uretra distal, cuerpos esponjosos y cavernosos, con extensión proximal a piel, sin afectación del margen. 3. Identificación de la extensión a las distintas estructuras anatómicas en las secciones transversales.



**Datos a reflejar en descripción macroscópica**

**Piezas de circuncisión:** Se referirán las medidas en tres dimensiones, describiendo el aspecto externo, identificando la localización y características del tumor presente en la muestra, indicando la distancia a los márgenes cutáneo y mucoso y su extensión en la pieza.

**Piezas de penectomía (**parcial o total): En primer lugar, se referirán las medidas de la pieza, describiendo su aspecto externo e incluirá la presencia o no de prepucio y sus características [incluyendo la presencia de fimosis, dato considerado como factor de riesgo de carcinoma. Posteriormente se realiza la descripción de la neoplasia (o neoplasias, si se trata de tumores multicéntricos): localización, indicando las distintas regiones afectadas(glande, surco coronal o superficie mucosa del prepucio, si se encuentra localizado en la porción distal, superficie cutánea del prepucio o del tallo, si surge en la superficie cutánea), el tamaño máximo del tumor o tumores, sus características macroscópicas (plano, ulcerado, polipoide, verrugoso,… áreas de necrosis y hemorragia) incluyendo el carácter infiltrativo o expansivo del frente de invasión tumoral y la extensión macroscópica máxima detectada (véase esquema en Figura). Así mismo se indicará la posible afectación macroscópica de los márgenes quirúrgicos, especificando la localización de la afectación.

**Protocolo recomendado de selección de las secciones en tallado**

**Pieza de circuncisión**: Se realizará una inclusión completa tras el seriado de la pieza en sentido longitudinal, identificando el cuadrante al que corresponde cada grupo de secciones o mediante un código horario.

**Pieza de penectomía**: El margen de resección ha de incluirse completo. Un bloque habrá de contener la uretra y el cilindro periuretral y el resto del margen se incluirá en los bloques necesarios. Se recomienda incluir un mínimo de 2 a 6 secciones de la neoplasia en función del tamaño de la misma, especialmente en aquellos puntos que muestren la infiltración más profunda, la relación con la uretra y la superficie cutánea.

**DESCRIPCION MICROSCOPICA**

En principio no se considera necesario realizar una descripción microscópica específica a menos que el caso sea especialmente complejo (tumores híbridos, tipos histológicos poco habituales). Según el contexto del centro y la relación más o menos estrecha con los clínicos responsables puede optarse por incluir en este apartado parte de los datos que se incluyen en el apartado correspondiente al diagnóstico.

**DIAGNÓSTICO**

El diagnostico ha de incluir los siguientes datos:

- Tipo de muestra recibida,
- Localización del tumor,
- Tamaño en centímetros,
- Tipo histológico
- Grado histológico en el caso del carcinoma tipo «usual»
- Patrón de crecimiento tumoral,
- Nivel anatómico de invasión,
- Invasión linfovascular y perineural
- Estado de los márgenes de resección, indicando en caso de afectación si se trata del margen cutáneo o mucoso (piezas de circuncisión), uretral o periuretral, corporal o cutáneo.

De forma opcional y en función del contexto del centro en el que se realice el estudio se puede incluir en la línea diagnostica tan solo los siguientes datos: tipo histológico del tumor, grado, estadio patológico y estado del margen de resección, e incluir el resto de los datos en la descripción microscópica.

En una segunda línea diagnostica se incluirán las posibles lesiones asociadas, como los distintos tipos de neoplasia intraepitelial peneana, liquen escleroso o afectación dermatológica inflamatoria de otro tipo.

En las muestras de linfadenectomía se indicará el tipo de procedimiento (ganglio centinela o linfadenectomía) y se incluirá el número total de ganglios aislados consignando el número de ganglios metastásicos, así como la presencia de extensión extracapsular.

La clasificación del tipo histológico se realizará de acuerdo a la actual clasificación de neoplasias de la OMS (2022), clasificación actualizada, basada en la relación con HPV:

**Carcinoma invasivo**

- ASOCIADOS A HPV:
  - Basaloide
  - «Warty»
  - Células claras
  - Tipo linfoepitelioma
  - Mixtos (debe indicarse el % de cada subtipo)
- INDEPENDIENTES DE HPV:
  - Carcinoma escamoso tipo usual (incluye el pseudohiperplásico y pseudoglandular)
  - Verruciforme
  - Papilar
  - Sarcomatoide
  - Mixtos (debe indicarse el % de cada subtipo).
- CARCINOMAS QUE NO CUMPLEN CRITERIOS DE NINGUNO DE LOS ANTERIORES Y EN LOS QUE NO ES POSIBLE TIPIFICAR LA RELACIÓN CON HPV (p16 inasequible):
  - Carcinoma escamoso NOS
- CARCINOMA ADENOESCAMOSO
- CARCINOMA MUCOEPIDERMOIDE.

**Lesiones precursoras**

La OMS agrupa también las lesiones precursoras en función de su relación con HPV. En este sentido se distinguen:

- NEOPLASIA INTRAEPITELIAL DE PENE ASOCIADA A VPH: Caracterizada por una lesión de alto grado. Puede utilizarse la nomenclatura de HSIL aplicada a cérvix, vulva y ano.
- NEOPLASIA INTRAEPITELIAL DE PENE INDEPENDIENTE DE VPH: la morfología de esta lesión es más ambigua con displasia que puede estar limitada a la capa basal o parabasal.

Para ambas lesiones es recomendable seguir los criterios publicados en la última edición del libro de la OMS 2022.

A nivel mundial se considera que alrededor del 50 % de los carcinomas de pene se relacionan con la exposición al VPH, no obstante, este dato presenta una gran variabilidad de tal manera que en nuestra zona geográfica, únicamente el 30 % de los pacientes con carcinoma escamoso de pene se relacionan con la exposición al VPH, lo cual significa que la gran mayoría (70 %) van a ser subtipos independientes del VPH.

Los subtipos morfológicos están muy bien descritos en el libro de la OMS del 2022 sin embargo, la concordancia entre morfología y estatus viral dista de ser perfecta con lo que es recomendable (aunque no obligado) efectuar algún tipo de test adicional para detectar la presencia de DNA vírico. De todos los disponibles, el estudio inmunohistoquímico con p16 es probablemente el más asequible y fácil de usar en la mayoría de los servicios de anatomía patológica de nuestro medio.

El grado histológico ha ganado importancia dado que es uno de los criterios utilizados para determinar el estadio T1b definido por la invasión del tejido subepitelial más la presencia de invasión vascular o perineural o bien que la neoplasia sea de alto grado. La inclusión de este criterio en la definición de un estadiaje es bastante excepcional y es un motivo para ser estrictos en la gradación de los carcinomas. Además, se trata de un factor pronostico reconocido predictor de metástasis inguinales y de diseminación a distancia y se ha demostrado una variación interobservador significativa (la concordancia llega en algún estudio tan solo al 67 % de los casos) por lo que es precisa una estimación objetiva del mismo de acuerdo a criterios establecidos. Por ello se recomienda la versión más actualizada de los protocolos del Colegio Americano de Patólogos:

### Grados histológicos aplicables al carcinoma de pene

**Grado 1:** se trata de casos extremadamente bien diferenciados, con desviación mínima respecto a la morfología de un epitelio escamoso normal o hiperplásico.

**Grado 2:** tumores con crecimiento más desorganizado que el grado 1, con mayor relación núcleo-citoplasma, mitosis evidentes y queratinización escasa, aunque presente.

**Grado 3:** tumores que muestran cualquier proporción de células anaplásicas, dispuestas en sabanas solidas o agregados irregulares de pequeño tamaño, nidos o cordones de células con queratinización mínima o ausente, alta proporción núcleo-citoplasma, membranas nucleares gruesas, pleomorfismo nuclear, cromatina condensada, nucléolos prominentes y mitosis numerosas.

El grado de un tumor concreto se asigna en función del componente menos diferenciado presente en la muestra. También se debe tener en cuenta que algunas variantes morfológicas como el carcinoma sarcomatoide, son de alto grado por definición.

## ESTUDIOS INMUNOHISTOQUIMICOS-MOLECULARES

El estudio rutinario del carcinoma invasivo de pene no requiere del uso de técnicas inmunohistoquímicas o moleculares salvo aquellos casos tan indiferenciados que planteen el diagnostico diferencial con tipos de neoplasia no habitual (melanoma, linfoma) para lo que se atenderá a los protocolos existentes en cada centro.

El uso de p16 como marcador de infección por HPV puede ser un auxiliar para la correcta valoración de los tipos histológicos de carcinoma de células escamosas según la actual clasificación de la OMS, así como para diferenciar los distintos tipos de neoplasia intraepitelial peneana (PeIN), ya que la PeIN diferenciada (simple) no expresa este marcador al no estar relacionada con infección por HPV, en tanto que los tipos «*warty*» y basaloide sí lo expresan al relacionarse con este tipo de infección. La tinción para p53 puede complementar la de p16 y ayuda a clasificar de manera más precisa los casos independientes de VPH ya que en los carcinomas asociados a VPH la expresión de p53 debe ser normal («*wild type*») mientras que en un 60 % de los casos independientes de VPH, el patrón de expresión será anormal.

Aunque no existen marcadores pronósticos totalmente validados, la relación con VPH y la expresión de p53 parecen tener impacto pronóstico, por lo que aunque no se recomienda su uso habitual, las tinciones inmunohistoquímicas para p16/p53 pueden ser utilizadas en algunos centros de forma rutinaria, de acuerdo con los clínicos.

**TABLA RESUMEN**

Datos a reflejar en el informe anatomopatológico en neoplasias de pene.

**Descripcion macroscópica**

- Medidas y tipo de pieza
- Presencia de prepucio
- Localización de la neoplasia
- Regiones afectadas
- Tamaño máximo
- Configuración macroscópica
- Frente de invasión tumoral
- Extensión anatómica máxima
- Estado márgenes quirúrgicos (especificar localización)

**Diagnóstico**

- Datos de la neoplasia:
  - Localización del tumor
  - Tamaño tumoral
  - Tipo histológico (clasificación OMS)
  - Grado histológico
  - Patrón de crecimiento tumoral
  - Nivel anatómico de invasión
- Estadio patológico (pTNM) TNM (8ª edición)
- Invasión linfovascular
- Invasión perineural
- Lesiones asociadas.
- Datos referidos a linfadenectomía:
  - Tipo de resección (centinela, vaciamiento y lateralización)
  - Número total de ganglios aislados
  - Número de ganglios metastásicos
  - Presencia de extensión extracapsular.
- Estado de los márgenes de resección, indicando localización.

**TNM 8ª EDICIÓN (2017)**

| **Clasificación patológica** | | |
|---|---|---|
| **T – Tumor primario** | | |
| pTX | Tumor primario no valorable | |
| pT0 | Sin evidencia de tumor primario | |
| pTis | Carcinoma *in situ* (Neoplasia intraepitelial del pene-NIP) | |
| pTa | Carcinoma no invasor | |
| pT1 | Invasión del tejido subepitelial | |
| | T1a | El tumor invade el tejido subepitelial. Sin invasión vascular ni perineural. El tumor no es de alto grado. |
| | T1b | El tumor invade el tejido subepitelial, hay invasión vascular o perineural o el tumor es de alto grado. |
| pT2 | Invasión de cuerpo esponjoso con o sin invasión de la uretra | |
| pT3 | Invasión de cuerpos cavernosos con o sin invasión de la uretra | |
| pT4 | Invasión de estructuras adyacentes | |
| **N – Ganglios linfàticos regionales** | | |
| pNX | Ganglios no valorables | |
| pN0 | Sin metástasis en ganglios regionales. | |
| pN1 | Metástasis en 1 o 2 ganglios inguinales | |
| pN2 | Metástasis en más de 2 ganglios inguinales o en ganglios inguinales bilaterales | |
| pN3 | Metástasis en ganglios pélvicos uni o bilaterales o extensión extranodal | |

**Bibliografía**


1. Thomas A, Necchi A, Muneer A, Tobias-Machado M, Tran ATH, Van Rompuy A-S, et al. Penile cancer. Nat Rev Dis Prim 2021 11;7(1):11-35.

2. Emmanuel A, Nettleton J, Watkin N, Berney DM. The molecular pathogenesis of penile carcinoma—current developments and understanding. Virchows Arch. 2019;475(4):397–405.

3. Ermakov MS, Kashofer K, Regauer S. Different Mutational Landscapes in Human Papillomavirus-Induced and Human Papillomavirus-Independent Invasive Penile Squamous Cell Cancers. Mod Pathol. 2023;36(10):100250.

4. Trias I, Algaba F, de Torres I, Saco A, Marimon L, Peñuelas N, Diez-Ahijado L, Sisuashvili L, Darecka K, Morató A, Del Pino M, Ferrándiz-Pulido C, Ribal MJ, Ajami T, Corral JM, Gaya JM, Reig O, Ordi O, Ribera-Cortada I, García-Herrera A, Rakislova N. p53 Immunohistochemistry Defines a Subset of Human Papillomavirus-independent Penile Squamous Cell Carcinomas With Adverse Prognosis. Am J Surg Pathol. 2024;48:1439–1447

5. Amin MB, Berney DM, Comperat, EM, Hartmann, A, Menon S, Netto GJ,et al. WHO Classification of Tumours 5th Edition. Urinary and Male Genital Tumours. International Agency for Research on Cancer. WHO editor. Lyon: IARC publications; 2022.

6. Borque-Fernando Á, Gaya JM, Esteban-Escaño LM, Gómez-Rivas J, García-Baquero R, Agreda-Castañeda F, et al. Epidemiology, Diagnosis and Management of Penile Cancer: Results from the Spanish National Registry of Penile Cancer. Cancers (Basel). 2023; 15(3):616.

7. Amin, M.B., Edge, S., Greene, F., et al. AJCC Cancer Staging Manual. 8th ed. New York, NY: Springer; 2017

8. Harik LR; Cubilla AL, PanerGP. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinoma of the Penis. Version 4.2.0.0 September 2023. Disponible en: https://documents.cap.org/protocols/Penis_4.2.0.0.REL_CAPCP.pdf?_gl=1*176uhgz*_ga*MTU4ODg2NzIyOS4xNzM2ODc3Mjgx*_ga_97ZFJSQQ0X*MTczNjg3NzI4MC4xLjEuMTczNjg3NzI5OC4wLjAuMA.

# Actualización de las recomendaciones para diagnóstico de cáncer de próstata

**María Eugenia Semidey, Inés de Torres**
*Servicio de Anatomía Patológica Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona*

Las muestras se deben remitir, todas, con una petición adjunta, sea en físico o electrónica dependiendo del funcionamiento de cada laboratorio, donde se especifiquen los datos clínicos del paciente y el origen de la muestra, así como del tipo de procedimiento realizado.

En el cáncer de próstata, las muestras con las que se trabaja suelen ser biopsias obtenidas mediante aguja (core biopsia), resecciones transuretrales prostáticas (RTUp) y piezas de prostatectomía radical.

A continuación, se detallarán las recomendaciones de envío, tallado y diagnóstico de acuerdo al tipo de muestra remitida: biopsia mediante aguja (core biopsia), resección transuretral prostática (RTUp) y prostatectomía radical (PR).

## BIOPSIA MEDIANTE AGUJA (CORE BIOPSIA)

Biopsia prostática sistemática + biopsia dirigida (target) guiada por RM multiparamétrica o por Fusión

### Recomendaciones del envío de muestras

En caso de biopsia de próstata mediante aguja, generalmente se reciben de 10 a 14 muestras, según el protocolo utilizado en el servicio de Urología (1–3). La muestra incluirá biopsias de mapeo sistemático (transrectales o transperineales) con o sin biopsias dirigidas (target) por Resonancia Magnética (RM) multiparamétrica o por fusión. En casos donde hay una alta sospecha clínica de una enfermedad de alto grado o estadio avanzado, se puede recibir una biopsia conservadora con un número reducido de muestras (1-2 muestras) dependiendo de cada caso en particular (4).

En los casos donde se envían 10-12 muestras de una biopsia sistemática, lo ideal es que se reciban en contenedores etiquetados de forma específica donde conste la identificación topográfica exacta de la muestra, según el protocolo utilizado (1 cilindro por contenedor de cada localización). Sin embargo, dependiendo de cada Hospital, pueden enviarse las muestras en contenedores con 2 cilindros cada uno, o, menos recomendado, 2 contenedores etiquetados como derecho e izquierdo (con más de 1 cilindro por contenedor de sitios combinados).

En cuanto a la idoneidad de la muestra para la inclusión y procesamiento, el envío de un contenedor por zona de biopsia es ideal (con 1 o 2 cilindros por contenedor). Cuando se envían más de 2 cilindros

en un solo contenedor, aumenta la probabilidad de fragmentación y fallos en la observación del 100 % del tejido remitido, después del procesamiento.

En caso de que sea imposible procesar las biopsias por contenedores separados, se recomienda identificar las distintas localizaciones de los cilindros mediante tinción con tinta china al momento de la inclusión. De esta manera, al observar en la microscopía podremos identificar mediante los colores utilizados, las distintas localizaciones de las biopsias realizadas.

Las biopsias prostáticas, independientemente de la cantidad de cilindros por contenedor remitidos, han de enviarse fijados en formol tamponado al 10 %. Se pueden colocar los cilindros sobre una superficie (papel o esponja) y sumergirlos en el fijador, de manera que se fijen lo más recto posible (2,3).

**Descripción macroscópica e inclusión en parafina**

En la descripción macroscópica ha de constar la siguiente información:

- Procedencia (según la identificación del solicitante)
- Número de cilindros
- Longitud de los cilindros

Se deberán incluir los cilindros lo más estirados (rectos) posible.

Se recomienda incluir un máximo de 2 cilindros por bloque. Sin embargo, en los laboratorios donde no fuese posible, se recomienda pintar con tinta china de distintos colores los cilindros que se van a incluir en el mismo bloque que sean de distinta localización, para poder identificarlos en la microscopía.

**Estudio microscópico de la biopsia prostática extensiva y de las muestras de RTU: qué evaluar y como cuantificar la afectación tumoral y el score Gleason**

El objetivo de la realización de la biopsia prostática extensiva en pacientes con sospecha de cáncer de próstata es la detección de la enfermedad, de preferencia en estadios iniciales. El papel del patólogo es realizar la base del diagnóstico, con el score Gleason (SG) así como con las distintas características histopatológicas que forman parte de los factores pronósticos en la determinación de la estratificación de riesgo, de manera de ofrecer a los pacientes una terapia individualizada de acuerdo a las características propias de su enfermedad (5,6).

Actualmente las guías urológicas recomiendan la biopsia extensiva lateralizada, con 10-12 biopsias guiadas por Resonancia Magnética, transrectal o transperineal, y además uno o dos cilindros más de nódulos sospechosos >Pirads 3 por RMN (Figura 1, Tabla 1) (2). Con esta ampliación, el propósito de la biopsia con aguja se ha desplazado al mapeo sistemático de la glándula, para no sólo detectar afectación por cáncer, sino también intentar anticipar su grado y su extensión (Figura 2)(7,8).

**Figura.1** Esquema del mapa sectorial de la próstata para la toma de biopsias sistemáticas y dirigidas por RMN(9)

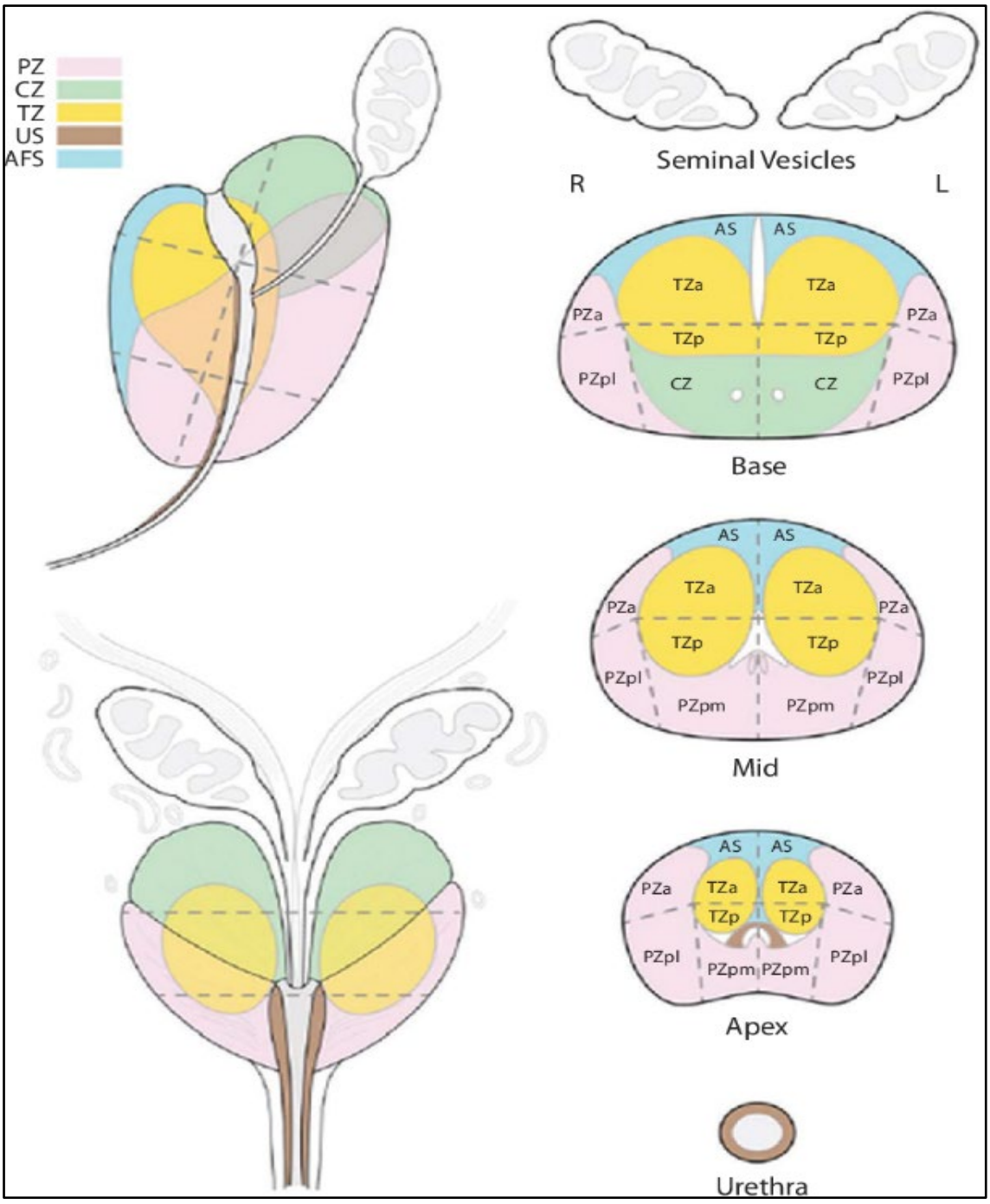
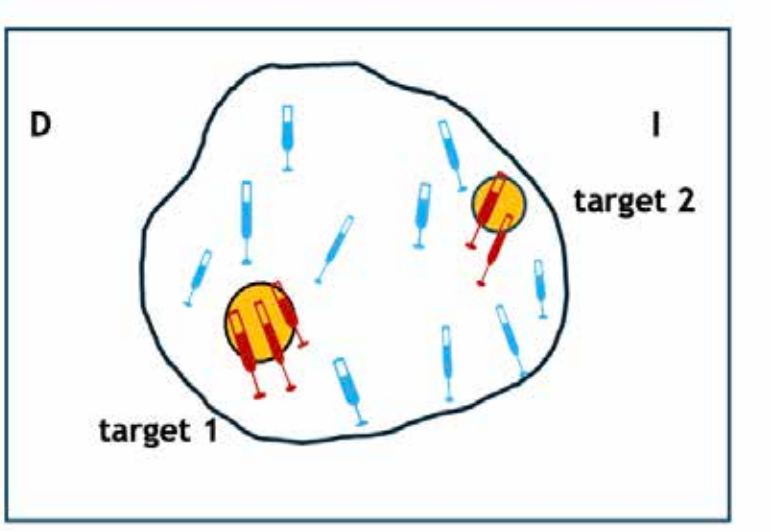


**Tabla 1.** Protocolo recomendado según localización de biopsias seriadas transperineales (A-M) (a consensuar con urólogos de cada centro)

| Biopsias sistemáticas y target (1,2 y 3) | |
|---|---|
| a) | PZA DERECHO |
| b) | PZPL DERECHO: |
| c) | PZPL-PZPM DERECHO |
| d) | PZPM DERECHO |
| e) | TZA DERECHO |
| f) | PZA IZQUIERDO |
| g) | PZPL IZQUIERDO |
| h) | PZPL-PZPM IZQUIERDO |
| i) | PZPM IZQUIERDO |
| j) | TZA IZQUIERDO |
| k) | EXTRA TARGET 1 |
| l) | EXTRA TARGET 2 |
| m) | EXTRA TARGET 3 |

**Figura 2.** Biopsia dirigida en PZpl-PZpm lóbulo medio derecho (target 1) y en PZA de lóbulo medio izquierdo (target 2)




Dado que algunos pacientes con cáncer de bajo riesgo aparente pueden tener una enfermedad de alto riesgo no detectada en el momento del diagnóstico, la selección adecuada de pacientes para la vigilancia activa (VA) es de suma importancia. Los criterios de elegibilidad para la VA varían, pero suelen incluir parámetros de volumen de cáncer además del Grado Gleason (10,11). Pacientes con CaP con características ductales, sarcomatoides, carcinoma neuroendocrino de células pequeñas o carcinoma intraductal no son candidatos para VA, ya que estos subtipos se asocian con peor pronóstico. La invasión perineural no excluye la inclusión de un paciente en VA.

## BIOPSIA DE PRÓSTATA EXTENSIVA: QUÉ EVALUAR Y COMO CUANTIFICAR LA AFECTACIÓN TUMORAL Y EL SCORE GLEASON

La información histopatológica que ofrezca la biopsia va a ser usada por el urólogo/oncólogo para establecer una actitud terapéutica de menor o mayor agresividad según la probabilidad de invasión extracapsular o de progresión que se derive de los datos que aporta.

En la Tabla 2 se recogen todos los datos que se recomienda sean informados en la biopsia de próstata con CaP (12)

**Tabla 2.** Protocolo diagnóstico recomendado para informar en cada biopsia prostática (por contenedor)

| Protocolo diagnóstico recomendado para cada biopsia prostática | |
|---|---|
| Sin evidencia de neoplasia | |
| Invasión por adenocarcinoma | . Tipo histológico: Acinar / Ductal / otro<br>. Nº cilindros remitidos:<br>. Nº cilindros afectados:<br>. Medida del tumor: % o mm en cada cilindro afectado<br>. Grado histológico de Gleason:<br>. %Patrón 4: %Patrón 5:<br>. % Patrón cribiforme:<br>. Grado grupo pronóstico ISUP:<br>. Invasión perineural: si / no<br>. Invasión extraprostática: si / no<br>. Invasión linfo/vascular: si / no |
| Otros Hallazgos Adicionales**:<br>- IDC-P ***(Carcinoma intraductal prostático): si/no<br>- PIN de alto grado unifocal/multifocal /nº cilindros afectados:<br>- AIP (Proliferación Intraductal Atípica): si/no<br>- Atrofia/ Hiperplasia post-atrófica (si/no):<br>- Inflamación (Tipo e intensidad):<br>- Inflamación en muestra/s target/s o (tipo e intensidad):<br>- Cambios post-tratamiento (HT/RT/Otros): | |
| • Se debe realizar un diagnóstico por contenedor recibido según localización . Se deberá repetir el protocolo de invasión por adenocarcinoma para cada muestra remitida, en caso de ser maligna.<br>• **El apartado de "Otros hallazgos" es general para todas las biopsias. Puede ser colocado al final del diagnóstico de los cilindros.<br>• ***Según las recomendaciones de la ISUP no se gradará en el score de Gleason en el componente de carcinoma intraductal. | |

* Paner G, Srigley J, Harik L, Amin M, Eggener S, Huang J, et al. Protocol for the Examination of Prostate Needle Biopsies From Patients With Carcinoma of the Prostate Gland: Specimen Level Reporting [Internet]. 2023. Available from: www.cap.org/cancerprotocols (13)

### Calidad de la muestra

Al iniciar el estudio microscópico de las biopsias, verificaremos que el número de cilindros y sus longitudes en las secciones de H-E coinciden, con la descripción macroscópica. Así si, por ejemplo, hay una diferencia importante en el número de cilindros o en sus longitudes, se pueden realizar nuevas secciones más profundas con el fin de recuperar tejido prostático no seccionado para el examen microscópico.

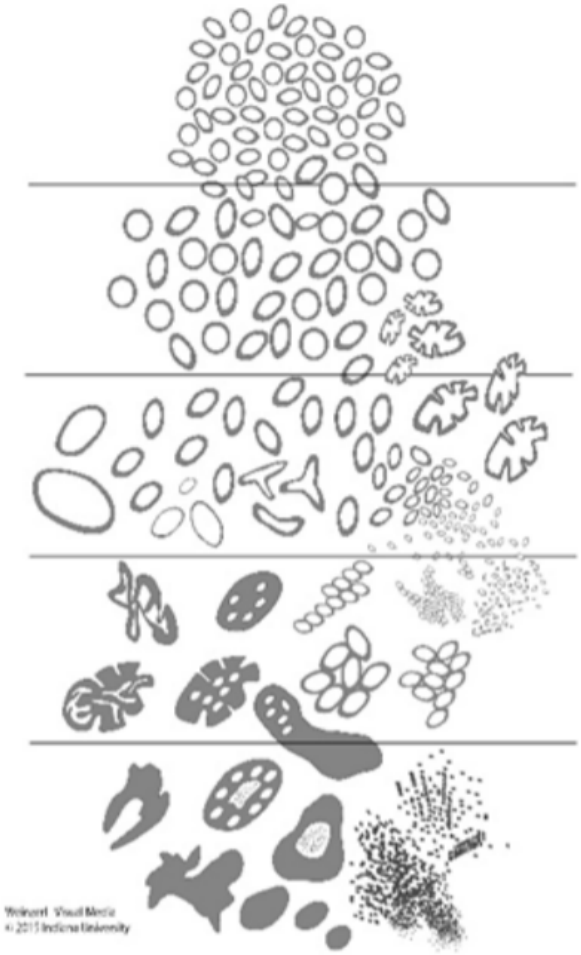
Idealmente, y siempre que se reciban separadas y/o identificadas (en distintos contenedores, con tintas de colores, etc), cada cilindro y/o zona de la biopsia debe informarse por separado, recogiendo en el informe específicamente su ubicación y si se trata de una muestra dirigida (target).

**Gradación histológica combinada de Gleason**

El sistema de clasificación de Gleason constituye la base para la clasificación del cáncer de próstata en todo el mundo. Se ha modificado en varias ocasiones durante los últimos 50 años, la más reciente después de las conferencias de consenso de la Sociedad Internacional de Patología Urológica (ISUP) en 2005, 2014 y 2019 y el libro blanco de 2019 de la Sociedad de Patología Genitourinaria (GUPS) (4). Los estudios de validación que siguieron a las modificaciones de 2005 y 2014 demostraron que la puntuación de Gleason sigue siendo un predictor independiente de la recurrencia bioquímica, la metástasis y la mortalidad específica por cáncer de próstata.

Se recoge que la gradación inicial que debería ser realizada a 4x y 10x, usando el 20x sólo cuando sea necesario para verificar el grado, con la siguiente asignación de patrones como norma general: glándulas individuales bien formadas, hiperplásicas de tamaños variables, atróficas y microquísticas corresponden a patrón 3; glándulas mal formadas o fusionadas, glándulas cribiformes o glomeruloides, de cualquier tamaño, corresponden a patrón 4; y células individuales, en sábana, en hilera y/o comedonecrosis a patrón 5. Sólo se dará un patrón 4 ante un grupo de glándulas pobremente formadas cuando esté claro que no corresponde a artefactos o sección tangencial de glándulas patrón 3 (Figura 3)(4,14).

**Figura 3.** Esquema Sistema de gradación Gleason modificado



**Recomendaciones de la gradación del score de Gleason (ISUP)**

La clasificación de Gleason (SG) debe aplicarse a todos los adenocarcinomas prostáticos. En caso de subtipos histológicos, se recomienda definir bien los contornos glandulares para adaptar los criterios diagnósticos.

El SG se forma con la combinación del patrón dominante y el patrón más agresivo presente (Tablas 3 y 4).

En las muestras de biopsia con aguja donde solo hay un componente secundario menor (<5 % de tumor): si es de grado superior, debe ser incorporado al SG pero si es de grado inferior, se desestima (ejs: un caso con más del 95 % de Gleason 3 y menos del 5 % de Gleason 4 se debe reportar como Gleason 7 (3 + 4); en la 2ª situación, cuando hay más de un 95 % Gleason 4 y menos del 5 % de Gleason 3, la puntuación o SG será 8 (4 + 4)).

En las biopsias donde están presentes más de dos patrones, y el patrón de peor grado no es el predominante ni el secundario, debe seleccionarse para el SG el patrón predominante y el superior (por ejemplo: el 75 % de patrón 3, 22 % de patrón 4 y <5 % de patrón 5, se califica como Gleason 8 (3 + 5)).

Se recomienda informar el porcentaje del patrón 4 en todos los casos con puntuación de Gleason 7 (3+4, 4+3), así como el porcentaje de patrón cribiforme asociado al patrón 4 observado, ya que constituyen criterios de elegibilidad para vigilancia activa. Un método recomendado para informar el patrón de Gleason 4 y cribiforme es de <5 %, 5 %, 10 % y 10 % de incrementos posteriores.

En casos de microfocos de adenocarcinoma, no se recomienda realizar el score de Gleason dado la posibilidad de dar una calificación potencialmente inexacta por poca representatividad del tumor. La gradación tampoco es aplicable a núcleos que muestran cáncer solo como invasión perineural.

Actualmente se define el patrón de Gleason 4 con cuatro arquitecturas básicas: glándulas cribiformes, fusionadas, mal formadas y glomeruloides. El patrón cribiforme es factor predictor independiente de peor pronóstico, particularmente en tumores con SG 7, por lo que se recomienda especificar el porcentaje de patrón cribiforme observado en las biopsias diagnósticas (4).

**Tabla 3.** Recomendaciones para Gradación del Gleason en biopsias cilíndricas con Ca Próstata

| Situación | Recomendación |
|---|---|
| Sólo un patrón presente (por ej., patrón 3) | Doblar el patrón (asignar SG: 3 + 3 = 6) |
| Abundante patrón alto (por ejemplo, patrón 4) con cáncer de patrón bajo <5% | Ignorar el bajo grado (asignar SG: 4 + 4 = 8) |
| Abundante patrón 3 con cualquier % de patrón 4 o 5 | Incluir el grado más alto (asignar SG: 3 + 4 = 7 o 3 + 5 = 8) |
| Focos pequeños en su mayoría patrón 4 y pocas glándulas de patrón 3 > 5% | Incluir el patrón bajo (asignar SG 4 + 3 = 7) |
| Tres patrones presentes (por ej. 3, 4 y 5) | Asignar el más común y el más alto grado (asignar por ej. SG: 3+5 = 8 o 4+5 = 9) |
| Múltiples cilindros con diferentes grados enviados por separado y/o con la ubicación designada. | Asignar SG separados para cada cilindro. |
| Múltiples cilindros con diferentes grados enviados en un envase y/o los cilindros están fragmentados. | Asignar SG general o global para la muestra** |
| Grado o score Gleason 7 | Se recomienda informar el % de patrón 4 y %de patrón cribiforme |

Modificado de Fine SW, Amin MB, Berney DM, et al. A Contemporary Update on Pathology Reporting for Prostate Cancer: Biopsy and Radical Prostatectomy Specimens. Eur Urol 2012.62: 20-39.

** Cuando se reciben múltiples cilindros juntos, sin designación de sus localizaciones, no hay una forma uniforme de clasificación del GS. Se recomienda que el SG sea global asignados para cada muestra (contenedor), aunque alternativamente una puntuación de SG se puede dar para cada cilindro positivo de un recipiente. Respecto a este hecho, cuando se reciben múltiples cilindros en un contenedor, incluso con la designación del sitio, es frecuente la fragmentación de los mismos, una situación problemática, ya que la relación de cada cilindro o fragmento con otro no estará clara. A fin de no dar una evaluación aparentemente precisa en un inherentemente impreciso escenario, la lógica dicta que el patólogo debería asignar un SG general en estos casos (5,15).

**Tabla 4.** Sistema de Gradación de Gleason modificado ISUP 2014

| Grupo de grado | Score Gleason | Definición |
|---|---|---|
| 1 | 6 | Glándulas bien formadas |
| 2 | 3+4=7 | Glándulas predominantemente bien formadas con menor componente de glándulas mal formadas / fusionadas /cribiforme |
| 3 | 4+3=7 | Glándulas predominantemente mal formadas / fusionadas/ cribiformes, con menor componente de glándulas bien formadas |
| 4 | 4+4=8<br>3+5=8<br>5+3=8 | Solo glándulas mal formadas / fusionadas/ cribiformes. Glándulas predominantemente bien formadas y en menor componente que carecen de glándulas (o con necrosis). Predominantemente, carecen de formación de glándulas (o con necrosis) y con menor componente de glándulas bien formadas |
| 5 | 4+5=9<br>5+4=9<br>5+5=10 | Pérdida de la formación de glándulas (o con necrosis) con o sin glándulas pobremente formadas / fusionadas / cribiformes |

* Paner G, Srigley J, Harik L, Amin M, Eggener S, Huang J, et al. Protocol for the Examination of Prostate Needle Biopsies From Patients With Carcinoma of the Prostate Gland: Specimen Level Reporting [Internet]. 2023. Available from: www.cap.org/cancerprotocols

Finalmente, la información esencial de cada muestra se podría transmitir con una simple línea de diagnóstico, como «Adenocarcinoma, Gleason 3 + 4 = 7 (grupo de grado pronóstico 2), en 1 de 2 cilindros, afectando el 20 % del cilindro/ tejido, con una medición de 3 mm de largo.

### Gradación de Gleason en biopsias post-tratamiento

### Gradación de Gleason tras Radioterapia (RT) externa y braquiterapia

Los cambios inducidos por RT en el CaP se pueden indicar como mínimos, moderados o severos (16), siendo aplicable la gradación Gleason sólo en el caso de cambios mínimos (Tabla 5).

**Tabla 5.** Gradación de los cambios inducidos por RT en el carcinoma de próstata

| Gravedad de los efectos de la radiación | Hallazgos | Información del score Gleason |
|---|---|---|
| Leve-mínima | Arquitectura intacta, mínimos o nulos cambios cito-nucleares | Aplicable |
| Moderada | Glándulas mal formadas con citoplasmas hinchados y anomalías nucleares. | No aplicable |
| Severa | Células individuales dispersas con vacuolización y anomalías nucleares graves | No aplicable |

Nos podremos encontrar en distintas situaciones:

Solo se ve cáncer irradiado: '' adenocarcinoma con intenso efecto del tratamiento RT'' y no se grada.

- Cuando el tipo habitual de CaP es el único presente después de la terapia, indistinguible del CaP de un paciente que no ha recibido RT, sí se puede gradar.
- En los casos en los que se ve tanto cáncer graduable como cáncer con efecto de RT, un enfoque razonable es asignar un GS y añadir una nota indicando: '' El Gleason asignado refleja la porción graduable del carcinoma (%); el cáncer restante muestra intenso efecto del tratamiento RT(15).

Es importante determinar si el cáncer presente es graduable: para los pacientes que tienen sólo cáncer con intenso efecto del tratamiento, no graduable, las tasas de fracaso bioquímico y recidiva, son similares a las tasas de los pacientes con biopsias benignas, a diferencia de los pacientes con cáncer graduable post-RT (17).

**Gradación de Gleason tras Terapia de privación de andrógenos**

Existen varias modalidades de terapia con grado variable de privación de andrógenos. Ha sido recientemente demostrado que la administración prolongada de inhibidores de la 5-α reductasa no influye en la arquitectura glandular del cáncer prostático, permitiendo la realización del SG(18). Por el contrario, el tratamiento con orquiectomía bilateral, agonistas LHRH, flutamida, abiraterona o MDV3100 producen el colapso de la arquitectura glandular del CaP y, por tanto, la clasificación de Gleason ya no es aplicable. Si en el CaP resistente a la castración, no se observa ningún efecto del tratamiento, esto se debe indicar, y una puntuación o SG podrá ser asignado (16).

**Gradación de Gleason tras modalidades de terapias preservadoras de próstata**

En pacientes seleccionados, la terapia focal usando ultrasonidos de alta intensidad, crioablación o termoterapia de ablación de una parte de la glándula puede ser ofrecida como modalidad de tratamiento preservador de próstata. Estos tratamientos producen necrosis coagulativa, fibrosis y depósitos de hemosiderina, pero la arquitectura glandular de la próstata residual permanece en gran parte no afectada, siendo la clasificación de Gleason aplicable. La presencia y extensión de la fibrosis y necrosis debería ser informada en cada biopsia para dar a conocer al clínico los efectos de la terapia en el lugar de la biopsia. Las inmunotinciones para células basales y AMACR en el tejido vital residual no se comprometen por estas modalidades de terapia(16).

**Grados de grupo pronóstico (ISUP/OMS)**

La clasificación obtenida mediante el score combinado de Gleason, se puede agrupar en 5 categorías pronósticas, grupos de grado 1 a 5. Esta agrupación de grados ha sido validada por distintos estudios independientes en cohortes quirúrgicas que muestran una correlación significativa con el resultado. La agrupación de grados ha sido aprobada por ISUP, GUPS y en la clasificación de la OMS de 2016. El grupo de grados también se conoce como grado ISUP o grado de la OMS en otras publicaciones. El grupo de grados debe informarse en conjunto con la puntuación de Gleason (19,20).

El origen de dicha agrupación, ha sido consecuencia del valor pronóstico reconocido en distintos estudios de agrupar los SG (GS 6, 7, 8 y 9-10), ya que cada grupo presenta supervivencias distintas de acuerdo al grado de diferenciación, siendo el grupo que tiene mejor supervivencia el correspondiente al SG 6 y el de peor supervivencia el correspondiente a SG 9-10. Además, la subestratificación de GS 7 basado en el grado primario (es decir, SG 3+4 vs SG 4+3) también ha demostrado tener diferencias en supervivencias.

Se recomienda, de esta manera, incluir en el diagnóstico los Grupos de Grado pronóstico por su valor pronóstico-terapéutico, que deben usarse con los criterios del Sistema de Gradación de Gleason modificado ISUP 2014:

**Cuantificación de la afectación por carcinoma de próstata en biopsias cilíndricas**

Los criterios de elegibilidad actuales para la vigilancia activa (VA) no sólo incluyen el SG, sino también estimaciones del volumen del cáncer en base al número de cilindros afectados y en mediciones de la extensión del CP en un cilindro. Por esta razón, tanto en biopsias diagnósticas como en las biopsias de seguimiento, *el* ***número o fracción de cilindros positivos debe ser recogido explícitamente, así como el porcentaje de cilindro/s afectado/s.*** Alternativamente, la extensión del cáncer por cilindro puede ser proporcionado en milímetros. No hay consenso todavía sobre qué medida es mejor, porcentaje o milímetros. Idealmente se podrían proporcionar ambas medidas (en porcentaje y en milímetros), especialmente en los pacientes que potencialmente puedan beneficiarse de la VA, (donde son pocos los cilindros positivos), y además porque que una gran variedad de nomogramas clínicos y protocolos utilizan diferentes medidas (21,22).

En cuanto a cómo hacer la cuantificación, se puede realizar una medición exacta con ocular milimetrado, midiendo la longitud del cáncer respecto a la longitud total del cilindro, o aproximando en porcentajes. La utilización de sistemas digitales de imagen para el diagnóstico permite utilizar sistemas de medición de manera más sencilla que se pueden incorporar al diagnóstico, sin consumo de tiempo extra para los patólogos.

Medición cuando el cáncer se distribuye como focos de CP discontinuos. En un cilindro dado, los focos de cáncer pueden estar presentes de forma continua o discontinua a lo largo de la longitud de la muestra. En el primer caso, la longitud en mm, porcentaje de afectación, o ambos son evaluados fácilmente. Pero cuando varios focos de carcinoma están separados por glándulas prostáticas benignas y estroma, algunos patólogos ''colapsan'' los focos de tumor sin considerar el tejido intermedio (23) mientras que otros miden la distancia más alejada entre los focos más externos e informan toda la longitud y/o porcentaje de afectación como si fuera un foco ininterrumpido (por ejemplo, tres pequeños focos de carcinoma discontinuos que implicaría el 80 % del cilindro) (21) o, un tercer grupo, lo considera discontinuo y hace el sumatorio de los focos para dar el % si entre ellos hay una distancia > 3 o 5 mm, entre los focos discontinuos (24).

El método usado puede dar lugar a cuantificaciones del tumor muy diferentes, lo que puede afectar las predicciones de los nomogramas o la elegibilidad para VA. Dos estudios de este tema específico comunican diferentes hallazgos. El primer estudio mostró que en cilindros con focos discontinuos de cáncer separados por 5 mm o < de tejido benigno, los dos métodos utilizados obtenían igual significado pronóstico. En contraste, un estudio posterior ha sugerido que la cuantificación como un foco

ininterrumpido en los cilindros con focos de CaP discontinuos correlaciona mejor con los resultados patológicos de la pieza de PR (21,23). Dada la evidencia limitada, no es posible sacar una conclusión definitiva en este momento.

Actualmente, ambas alternativas son aceptadas, siempre que se especifique y estandarice el método de medición dentro de un laboratorio, lo cual sorprende dada la importancia de este hecho, especialmente en aquellas circunstancias donde la forma de medir va a ser un factor discriminador de opción de VA. Obviamente, para la determinación del porcentaje de patrón de alto grado, sólo la cantidad de cáncer (sin intervenir tejido glandular benigno) debería tenerse en cuenta (15,23).

## BIOPSIAS DE RESECCIÓN TRANSURETRAL DE PRÓSTATA(RTU)

### Recomendaciones del envío de muestras

Se reciben uno o más contenedores con múltiples fragmentos de tejido prostático. Se debe recibir fijado en formol tamponado al 10 % en un recipiente de volumen adecuado para que la proporción entre el tejido y el fijador sea 10/1.

Cualquier distinción que quiera hacer el urólogo, debe hacerlo separando el material en distintos frascos.

### Descripción macroscópica, selección de material e inclusión en parafina

- Cuantificar el material. Se recomienda pesar en conjunto todo el material procedente de la RTU, tras retirar el formol. Indicar si se realiza inclusión total o parcial.
- No hay consenso sobre la cantidad de material a incluir.
- El examen cuidadoso de la muestra y su inclusión total pueden mejorar el valor predictivo del cáncer detectado por RTU.
- Las muestras de 12gr o menos deben incluirse en su totalidad.
- En muestras de más de 12gr es correcta la inclusión parcial con las siguientes directrices:
- Elegir los fragmentos de coloración amarilla, consistencia firme o que se distinguen del resto.
- En muestras de 12 a 30gr deben incluirse 12gr (5-6 cápsulas).
- En muestras de más de 30 gr hay que añadir un bloque por cada 10gr de más.
- Si se encuentra carcinoma en menos del 5 % del material, se debe hacer inclusión total.
- En pacientes menores de 65 años incluir todo el material para identificar todas las lesiones
- Si en los primeros 8 bloques se ha detectado carcinoma (T1b) no es necesario incluir más tejido.

### Estudio microscópico e informe de las muestras de RTU: qué evaluar y como cuantificar la afectación tumoral y el score Gleason

La RTU encuentra cánceres incidentales en 4-16 % de los pacientes intervenidos por hiperplasia nodular (HBP), aunque la prevalencia de este hallazgo ha disminuido en los últimos años, debido al screening con PSA y diagnóstico con biopsia antes de la RTU, así como al aumento de la terapias médicas y ablativos para la HBP (25,26).

### Gradación Gleason

Las normas descritas para biopsias se aplican a las muestras de RTU.

**Cuantificación del Tumor**

Determinar la proporción (porcentaje) de tejido prostático infiltrado por CaP en muestras de RTU es importante. Cuando se descubre el cáncer de próstata incidentalmente (es decir, descubierto en las muestras enviados por enfermedad clínicamente benigna, en general HPB), *el porcentaje de afectación se utiliza para el subestadiaje T1 clínica, con ≤5 % de afectación siendo T1a y > 5 % siendo T1b.*

En caso de resecciones de próstata transuretrales, por láser Holmio (HoLEP) o adenomectomías, donde se observe tumor prostático, se debe informar de todos los hallazgos histológicos informados en las biopsias diagnósticas, comentados en el apartado anterior.

El protocolo recomendado a seguir en caso de resecciones transuretrales prostáticas con malignidad, deberá contener los siguientes datos:

Tabla 6. Protocolo diagnóstico recomendado para informar RTU prostática maligna

| **Protocolo diagnóstico recomendado para RTU / adenomectomía prostática con malignidad** |
|---|
| Tipo de muestra remitida: *(RTU / Adenomectomia)* |
| . Tipo histológico: Acinar / Ductal / otro<br>. Grado histológico de Gleason:<br>. %Patrón 4: %Patrón 5:<br>. % Patrón cribiforme:<br>. Grado grupo pronóstico ISUP:<br><br>. Cuantificación tumoral: % tejido afectado /Nº chips invadidos / Nº chips totales<br>Adenomectomías: nódulo mayor en mm<br><br>. Invasión perineural: si / no<br>. Invasión extraprostática: si / no<br>. Invasión linfo/vascular: si / no<br><br><u>Otros Hallazgos Adicionales**:</u><br>- IDC-P *(Carcinoma intraductal prostático): si/no<br>- PIN de alto grado unifocal/multifocal /nº cilindros afectados:<br>- AIP (Proliferación Intraductal Atípica): si/no<br>- Atrofia/ Hiperplasia post-atrófica (si/no):<br>- Inflamación (Tipo e intensidad):<br>- Cambios post-tratamiento (HT/RT/Otros): |
| • *Según las recomendaciones de la ISUP no se gradará en el score de Gleason en el componente de carcinoma intraductal. |

En caso de tratarse de un carcinoma urotelial, escamoso o divergente se aplicará la gradación correspondiente a estos tipos o subtipos histológicos del tracto urinario.

## PIEZAS DE PROSTATECTOMÍA RADICAL

### Recomendaciones del envío de muestras

La pieza de prostatectomía debe remitirse completa (con las vesículas seminales y el cuello vesical). En ocasiones el urólogo cree oportuno separar el cuello vesical; en estos casos, éste será considerado como límite quirúrgico.

Recomendaciones en el manejo:

- Debe enviarse fijada en una solución de formol tamponado al 10 % o en fresco y colocar en formol tamponado inmediatamente a la llegada al laboratorio.
- El recipiente debe tener un volumen adecuado para que la proporción entre la pieza y el formol sea 10-20/1.
- Ha estar fijando al menos 1h por mm de grosor (media 24h).
- Cuando se necesite tejido en fresco para investigación y/o banco de tumores, debe remitirse lo antes posible al laboratorio de Anatomía Patológica (antes de 1h para preservar los tejidos y los ácidos nucleicos) previo a la inmersión en formol.

Se proponen diferentes opciones para la toma de material para investigación:

- Cortar una muestra de la zona sospechosa con bisturí tras la sección antero-posterior de la próstata.
- Para evitar la deformación de la próstata previamente cortada puede pincharse sobre un corcho con la superficie de corte hacia abajo y sumergirla rápidamente en formol tamponado al 10 %, en un recipiente adecuado para mantener la proporción 10-20/1.
- Biopsia por punch de las secciones de la próstata que interesen.

El material en fresco, obtenido por cualquiera de los métodos se procesará poniendo OCT y se congelará en isopentano inmediatamente.

### Descripción macroscópica e inclusión en parafina de prostatectomía radical

- Pesar la glándula sin las vesículas seminales ni los conductos deferentes.
- Medir la próstata en tres dimensiones: apical- basal (vertical), izquierda-derecha (transversal) y anterior-posterior (sagital). En todas las medidas se tomará la longitud máxima.
- Pintar el margen quirúrgico. La adhesión de la tinta mejora sumergiendo la próstata en ácido acético al 5 %.
- Se recomienda pintarla con 2 colores como mínimo para diferenciar el lado derecho y el izquierdo.
- Pueden usarse hasta 4 colores para separar las regiones anterior y posterior.
- Puede ponerse un solo color (nitrato de plata o tinta china) y hacer un corte en una localización específica (antero-lateral o posterior izquierda) e incluirla detallando la topografía.
- Se recomienda apoyar la pieza sobre la superficie posterior (rectal).
- Para pasar al tallado o corte de la pieza ha de estar fijada completamente:

Comenzar el tallado por una sección gruesa del ápex, realizando un corte perpendicular a la cara posterior y después la porción cónica debe laminarse de forma sagital (cone method).

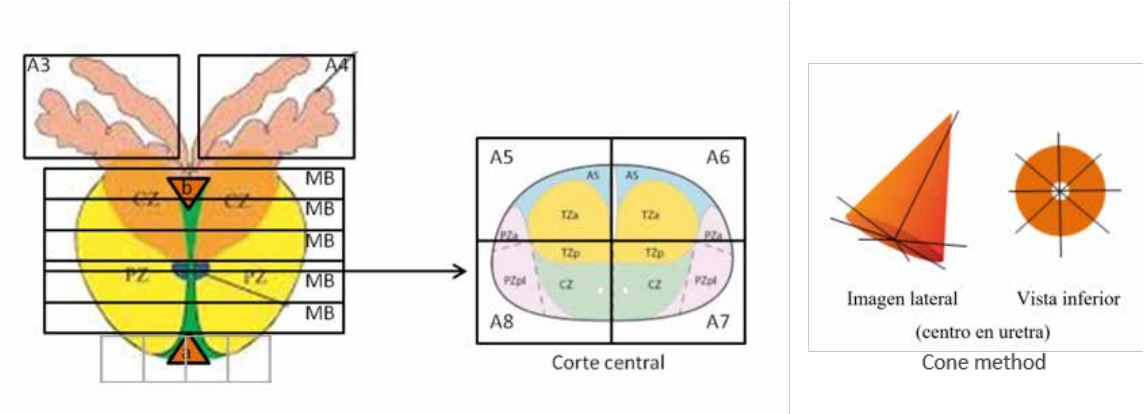
La base debe separarse del resto de la próstata, con un corte paralelo al cuerpo y perpendicular a la cara posterior, más delgado que el corte del ápex (cone method), y posteriormente realiza el laminado sagital (ver Figura 4).

Después realizar cortes paralelos de 3-4mm, de ápex a base, perpendiculares a la uretra, con hojas de bisturí muy largas (22) para lograr un corte homogéneo.

Puede fotografiarse el conjunto de los cortes, una vez seccionada la pieza manteniendo la orientación. En este momento puede añadirse a la descripción macroscópica todas aquellas alteraciones que destaquen al corte. En la superficie de sección deben valorarse las áreas amarillas o más densas (localización y medidas).

Se recomienda realizar **la inclusión total** de la glándula prostática según las directrices de la mayoría de las guías europeas y americanas (Figura 4) (4,27,28). La elección de procesar la próstata en secciones completas o cortes estándar depende de cada laboratorio. En el caso de la inclusión por segmentos (por división en 4 de cada sección panorámica) debe identificarse cada bloque de forma individualizada. La clave para identificar la procedencia de los cortes se hará de acuerdo al método de confección de las preparaciones. Es recomendable seguir siempre el mismo orden, siendo la forma más natural el recuento de las secciones desde el cuello vesical. Los cortes sagitales del ápex y de la base se incluyen de esa forma para poder ver más extensión de borde quirúrgico. Debe incluirse la porción basal de cada vesícula y la transición de la vesícula a la próstata. No es recomendable incluir toda la vesícula seminal. No debe incluirse el margen de resección de los vasos deferentes.

**Figura 4.** Esquema de inclusión de prostatectomía radical. Inclusión esquemática de la glándula prostática. Cone method (cortes seriados perpendiculares al margen centrados en uretra). MB: megabloques si hay disponibilidad en el centro, o cortes por cuadrantes identificando cada cuadrante.




Si se realiza una **inclusión parcial** debe asociarse una descripción detallada del método usado y de las muestras, y añadirlo al informe de diagnóstico.

Uno de los posibles métodos de inclusión parcial, debería incluir, sin falta, secciones de:

- Cuello vesical (si está incluido en la pieza según lo descrito en el capítulo de manipulación de la pieza) cortado de forma sagital.
- Ápex prostático cortado de forma sagital.
- Porciones laterales posteriores de ambos lados (con especial interés en los plexos vasculonerviosos superiores e inferiores).
- Zonas prostáticas sospechosas (tanto macroscópicas como detectadas por la clínica) incluyendo el borde quirúrgico.
- Zonas de las vesículas seminales, porción basal y la transición a la próstata.
- Zona fibromuscular anterior, especialmente en aquellos casos con inicio o extensión de la neoplasia a la zona de transición.

Estudio microscópico de la pieza de prostatectomía radical: parámetros mínimos para el correcto diagnóstico. Cuantificación del porcentaje de afectación y del score Gleason

En el caso de la prostatectomía radical y según las recomendaciones de la Guía Clínica del Cancer de Próstata de la Asociación Europea de Urología EAU (2023) se debe analizar la próstata en su totalidad ya que el tumor es frecuentemente multifocal e indetectable macroscópicamente. El estudio histológico se realizará bien sobre los cortes de los megabloques o de los bloques usuales siempre con orientación previa en el estudio macroscópico de la pieza, dependiendo de la disponibilidad del laboratorio, al objeto de establecer correlación zonal de los nódulos tumorales identificados en el estudio histológico con aquellos nódulos detectados previamente en el estudio radiológico (PI-RADS 4 y 5). La linfadenectomía regional extendida se remitirá solo en aquellos pacientes seleccionados con cáncer de próstata localizado de riesgo intermedio y alto, según nomogramas clínicos (MSKCC) que con múltiples variables (PSA, edad, estadiaje clínico, nº de cilindros invadidos, grado sumatorio de Gleason etc.), utilizan algoritmos matemáticos obteniendo un score que define el riesgo de progresión en el CaP. Por último, el análisis del ganglio centinela en el cáncer de próstata está en estudio no siendo de momento una práctica clínica validada.

El objetivo de la prostatectomía radical por cualquier método es la erradicación del cáncer, preservando al mismo tiempo, siempre que sea posible, la función de los órganos pélvicos. El procedimiento implica la extirpación de toda la próstata con su cápsula intacta, seguida de una anastomosis vesicouretral. Los abordajes quirúrgicos se han ampliado desde los abordajes abiertos perineales y retropúbicos hasta las técnicas laparoscópicas y asistidas por robot (28).

La indicación de la Asociación Europea de Urología (EAU), es realizar la PR en pacientes con enfermedad localizada +/- linfadenectomía regional. La disección pélvica se recomienda para pacientes con cáncer de próstata de riesgo intermedio que tienen una alta probabilidad de invasión de ganglios linfáticos (con valores de corte que varían del 5 al 7 %), según la evaluación del nomograma de Briganti, así como para aquellos con cáncer de próstata de alto riesgo (28).

Aunque la mayoría de los pacientes con CaP órgano-confinado tendrán un pronóstico favorable, los pacientes con factores de alto riesgo seguirán un curso heterogéneo. En este contexto, un informe exacto y detallado se ha convertido en un imperativo en la actualidad (Sun 2012). Por ello, es fundamental que las piezas de PR sean procesadas, evaluadas e informadas con gran precisión, para maximizar su utilidad clínica.

El diagnóstico y tratamiento del CaP ha evolucionado y requiere del patólogo un conocimiento actualizado de los criterios con valor terapéutico y pronóstico. Se han realizado consensos internacionales de uropatólogos, para consensuar distintos aspectos, algunos controvertidos, del estudio e informe de las piezas de PR, detalladas a continuación.

El protocolo diagnóstico de la prostatectomia radical deberá reflejar los siguientes datos:

**Tabla 7.** Parámetros mínimos que debe incluir el informe de la pieza de prostatectomía radical

| **Protocolo diagnóstico recomendado para prostatectomía radical** |
|---|
| . Tipo histológico: *Adenocarcinoma Acinar / Ductal/ Carcinoma neuroendocrino/ Otros*<br><br>. **Grado histológico de Gleason**<br>%Patrón 4: (en Gleason 7) %Patrón 5: (opcional)<br>% Patrón cribiforme: (opcional)<br>Patrón terciario 5 (<5%): si/no<br>. **Grado grupo pronóstico ISUP**<br>. **Estadiaje patológico (pTNM, AJCC 8ª Ed.)**<br><br>. Carcinoma Intraductal* (IDCp) : *Si/No (*% de IDCp)<br><br>. Focalidad del tumor: *Unifocal/Multifocal (*Nº de focos)<br>. Cuantificación tumoral:<br>Porcentaje de próstata invadida por tumor<br>Localización y medidas de *nódulo/s dominante/s* correlación con PIRADS 4,5):<br><br>. Extensión extraprostática (EEP):<br>Focalidad: *Focal (no más de 1 CGA en no > 2 secciones):*<br>*No Focal (Extensiva):*<br>Localización (zonal):<br>Medidas (diámetro máximo en mm):<br><br>. Invasión de vesícula seminal (pared muscular y mucosa): *Si/No*<br>. Invasión de cuello vesical: *Si/No*<br>. Invasión Perineural: *Si/No*<br>. Permeación vascular linfática y/o venosa: *Si/No*<br><br>. <u>Extensión de la Invasión (pT):</u><br><br>. <u>Linfadenectomia Ilio-obturatriz bilateral/Extensiva (pN)</u>:<br>Ganglios linfáticos (Nº invadidos/Nº remitidos):<br>Si metástasis ganglionares diámetro máximo del de mayor tamaño (en mm):<br>Invasión Extracapsular: *Si/No*<br><br>. <u>Márgenes Quirúrgicos</u>:<br>Glándulas Benignas en el margen: *Si/No*<br>Glándulas Neoplásicas en el margen: *Si/No*<br>Si Margen positivo, tipo de Margen Positivo<br>*Margen (+) con Invasión Extraprostática (EEP)*<br>*Margen (+) de tipo Incisión Quirúrgica (Intraprostático)*<br>Localización y medidas:<br>Patrón de Gleason en margen afectado: *3 / 4 / 5*<br><br>*<u>Otros Hallazgos Adicionales</u>*:<br>. Proliferación Intraductal Atípica (AIP): *Si/No*<br>. PIN de alto grado (HGPIN): *Si/No*<br>. Si cambios morfológicos de terapia previa: *RT/HT/Otros*<br>. Hiperplasia Adenomatosa Atípica (HAA): *Si/No*<br>. Hiperplasia Glandular: *Si/No*<br>. Inflamación *(Tipo e Intensidad):* |
| *Según las recomendaciones de la ISUP no se gradará en el score de Gleason en el componente de carcinoma intraductal. |

* Paner G, Srigley J, Harik L, Amin M, Eggener S, Huang J, et al. Protocol for the Examination of Prostate Needle Biopsies From Patients With Carcinoma of the Prostate Gland: Specimen Level Reporting [Internet]. 2023. Available from: www.cap.org/cancerprotocols (13)

## CUANTIFICACIÓN DEL SCORE GLEASON

Es el factor pronóstico individual más fuerte de comportamiento clínico y respuesta al tratamiento, siendo uno de los parámetros incorporados en los distintos nomogramas que usan los urólogos para predecir el riesgo de recurrencia después de la PR (29). El sistema de estadificación del American Joint Committee on cancer (AJCC) en sus últimos cambios incorpora el score Gleason y el nivel de PSA, además del TNM, para establecer los grupos pronósticos (30,31).

### Construcción del Score Gleason en la pieza quirúrgica

*El score Gleason (SG) en la PR se obtiene sumando el patrón primario y el secundario,* es decir el primero y el segundo más predominante (en volumen). Si sólo un patrón está presente o es mayor del 95 %, este se duplica para obtener el SG. Es decir, si un patrón comprende < 5 % del volumen del cáncer, este grado no se incorpora al SG. En cuanto a la puntuación o score Gleason si presenta tres patrones, se modifica respecto a la forma de cuantificación previa: si existe un patrón terciario mayor que el primario y el secundario que comprende > 5 % del tumor, se incorpora al score o puntuación Gleason como secundario. La *presencia de un patrón terciario de alto grado: 4 o 5, y su proporción aproximada del volumen del cáncer también debe informarse, además del SG global*, por su relevancia pronóstica (4,11,30).

*Así pues, deben informarse tanto los patrones como el SG total,* siendo las fórmulas más recomendadas y usadas: score Gleason 7 (4+3) o score Gleason 4+3=7, donde el patrón primario, o más predominante, va de primero.

*Si hay varios nódulos tumorales individuales a cada uno se asignará su score Gleason separado* Una puntuación o score Gleason global se da cuando hay múltiples tumores pequeños o multifocalidad, pero si hay un foco tumoral claramente separado con una puntuación de Gleason superior también debe ser mencionado. Por ejemplo, si hay un gran tumor en la zona de transición con SG 6 (3+3) y un área menor de cáncer separado, en la zona periférica, SG 8 (4+4), *ambos resultados deben ser informados, en lugar de dar una puntuación promedio.*

## CUANTIFICACIÓN DEL PORCENTAJE DE AFECTACIÓN O DEL VOLUMEN TUMORAL

Los estudios han demostrado que el volumen del cáncer de próstata es predictivo de la recurrencia bioquímica y las metástasis. Sin embargo, los datos son contradictorios en cuanto a su importancia como factor pronóstico independiente (10,11,30). La multifocalidad es frecuente, dificultando la precisión en el cálculo del volumen total afectado, por lo que la sugerencia actual es que en muestras de prostatectomía radical, el porcentaje de tejido afectado por el tumor se puede cuantificar mediante una simple inspección visual (15). Además, puede ser posible medir el nódulo tumoral dominante en al menos 2 dimensiones y/o indicar el número de bloques afectados por el tumor del número total de bloques prostáticos presentados (32).

En caso de observar dos o más nódulos tumorales, la selección de uno de ellos como el nódulo dominante, dependerá si tienen score de Gleason similar, donde el tumor más grande debe ser considerado el tumor dominante, y si los dos nódulos tumorales tienen diferentes SG, el nódulo con el score más alto debería ser considerado el dominante o tumor índice, independientemente de su tamaño.

## CARCINOMA INTRADUCTAL (IDCp)

El carcinoma intraductal (IDCp) identificado en una muestra de RP se asocia con un score de Gleason y un estadio más alto, así como con una supervivencia libre de progresión o específica para el cáncer más baja (4,32). Es importante distinguir el IDCp de la neoplasia intraepitelial prostática (PIN) de alto grado y la proliferación intraductal atípica (AIP). Tanto ISUP como GUPS recomiendan que las puntuaciones de Gleason o los grupos de grado no se asignen al IDCp puro, el cual es infrecuente en

muestras de RP (13). Sin embargo, la clasificación del cáncer invasivo con IDCp concomitante es controvertida. ISUP recomienda incorporar el IDCp para determinar el grado, mientras que GUPS recomienda no incluir el IDCp para determinar el grado. Se recomienda especificar cuál de estos dos enfoques se aplica al clasificar el cáncer invasivo con IDCp concomitante. La distinción entre el IDCp y el patrón cribiforme invasivo o de comedonecrosis debe basarse en un examen morfológico. En el enfoque en el que no se incorpora el IDCp, se puede utilizar la inmunohistoquímica para células basales si hubiese posibilidad de que los resultados modifiquen el score de Gleason (13,33).

## EXTENSIÓN EXTRAPROSTÁTICA

Se define la extensión extraprostática (EEP) como carcinoma infiltrando el tejido adiposo periprostático u otros tejidos que estén más allá del contorno de la glándula.

De esta manera, la enfermedad puede ser categorizada como afectación del tejido conectivo laxo en el plano de la grasa o más allá, en ausencia de contacto directo con los adipocitos, o cuando infiltra el paquete neurovascular. En caso de afectación de la porción apical o borde anterior puede ser más complicado por la ausencia del componente adiposo, determinando en estos casos que la EEP presenta glándulas neoplásicas más allá de la cápsula/borde prostático. A veces se puede observar un nódulo tumoral protruyendo claramente, el cual debe ser confirmado que se trate de invasión real extraprostática y no que tenga fibras de músculo liso condensado en el estroma peritumoral, lo cual sería catalogado como intraprostático (15,32).

La invasión microscópica del cuello de la vejiga también se considera EEP y se debe informar como pT3a, considerado un factor predictor de la recurrencia del PSA, similar a la extensión extraprostática.

Un margen positivo del cuello vesical debe ser informado como una extensión extraprostática (pT3a) con margen positivo, y no como enfermedad pT4. El estadio pT4 sólo se puede asignar cuando el tumor invade la pared muscular de la vejiga claramente, según lo determinado por el urólogo (32).

No hay definiciones bien establecidas y aceptadas internacionalmente de los términos EEP «focal vs no focal /establecida o extensa». Algunos autores describen focal como «pocas glándulas» (34) o tumor de la EEP ocupando <1 campo de gran aumento (35), mientras que otros miden la profundidad de la extensión en milímetros (36). Se considerada clínicamente útil informar del grado de extensión extraprostática, por ejemplo, menos o más de 1 de campo de gran aumento o 1 mm. La *EEP se considera focal con sólo unas pocas glándulas neoplásicas fuera de la próstata o un foco de tumor ocupando menos de 1 CGA en 1 o 2 secciones; la EEP no focal (o establecida) está más ampliamente extendida a partir del borde de la próstata* (37).

## MÁRGENES QUIRÚRGICOS

Se ha informado afectación del margen quirúrgico en un 11-38 % de las PR. El estado del margen quirúrgico *es un factor de riesgo independiente para la recidiva bioquímica*. La probabilidad de estar libres de progresión para hombres con margen quirúrgico positivo en su pieza de PR es de 58-64 %, en contraste con el 81-83 % para pacientes con márgenes quirúrgicos negativos (32).

Un margen quirúrgico positivo se puede definir como *tumor que se extiende a la superficie de la próstatectomia a través del plano de tejido por donde el cirujano ha cortado*. Esto incluye tanto la falta de extirpar EEP como la incisión intraprostática (o 'capsular') de un tumor, por otra parte, órgano-confinado. Así pues, *un margen positivo no es evidencia de extensión extraprostática*.

***Consideraremos un margen positivo si las células tumorales están en contacto con la tinta*** *en la superficie de la muestra* y negativo si las células tumorales están cerca de la superficie tintada del margen, pero sin tocarla, o cuando están en superficie de tejido carente de cualquier tinta. El concepto de considerar un margen quirúrgico negativo si el CaP no llega a la superficie de la pieza de prostatectomía,

a pesar de distancias microscópicas <0.1mm, ha sido apoyado por estudios que han documentado una ausencia de correlación entre distancia del margen y cualquier progresión de la enfermedad postoperatoria, recurrencia de la enfermedad o cáncer residual (32).

Las localizaciones específicas de los márgenes positivos deben ser recogidas y especificar si es en EEP o en incisión intraprostática en cada sitio de la positividad.

Se ha demostrado que la cuantificación de la extensión de la positividad de los márgenes quirúrgicos se correlaciona con el pronóstico. Varios estudios han demostrado que una longitud total de 3 mm es un punto de corte útil para estratificar el pronóstico (32,38,39).

La ubicación de los márgenes positivos varía y es más común en el ápex, en la porción posterior y posterolateral de la próstata. El margen positivo en la próstata posterolateral puede conllevar un mayor riesgo de progresión, sin embargo, no se ha demostrado que la ubicación sea un predictor independiente de la recurrencia del PSA. Se ha sugerido que los márgenes positivos multifocales están asociados con un mayor riesgo de recurrencia del PSA.

Estudios recientes han demostrado que el grado o puntuación de Gleason en un sitio de positividad del margen se correlaciona de forma independiente con la recurrencia del PSA (32). La presencia de cualquier patrón 4 o 5 en un tumor en un margen duplica el riesgo de recurrencia del PSA en comparación con solo el patrón 3 de Gleason en el margen. El grado o puntuación de Gleason en el margen positivo puede ser similar o inferior al del tumor principal y se recomienda informarlo (40).

**INVASIÓN LINFOVASCULAR**

La invasión linfática y/o vascular (LVI) es un predictor independiente de recurrencia y progresión bioquímica y se ha asociado con metástasis y disminución de la supervivencia después de la RP (32,41). Se informa en hasta el 21,5 % de las muestras de RP.

La invasión linfovascular (ILV), se define como la presencia inequívoca de células tumorales dentro de espacios revestidos por endotelio o como la presencia de émbolos tumorales en pequeños vasos intraprostáticos. La LVI se puede confirmar mediante marcadores asociados al endotelio, aunque esto no suele ser necesario.

Se debe tener especial cuidado para excluir artefactos por retracción o desplazamiento mecánico de las células tumorales con la hoja del bisturí (pseudoémbolo), tumor dentro de los conductos prostáticos y tumor dentro de espacios perineurales.

**INVASIÓN PERINEURAL**

La invasión perineural (IPN) es un hallazgo común en la prostatectomía radical, definida como la infiltración por células tumorales a lo largo, en o circunferencialmente alrededor de un nervio. La mayoría de los estudios han demostrado que la IPN no es un predictor independiente del resultado en la prostatectomía radical y reportar su presencia se considera opcional (32).

**INVASIÓN DE VESICULAS SEMINALES**

La invasión de la vesícula seminal es un factor pronóstico adverso asociado con un mayor riesgo de recurrencia del PSA y peor que la EEP (32).

Para su valoración histológica se deben tener en cuenta las siguientes consideraciones (24):

Sólo debe ser considerada como invasión de la vesícula seminal la invasión de la pared muscular de la vesícula seminal extraprostática.

La inclusión completa de las vesículas seminales no es necesaria, se debe enfatizar en la zona de unión de las vesículas seminales a la próstata.

La toma de muestras de los márgenes de los conductos deferentes no es obligatoria.

La afectación de la vesícula seminal extraprostática se incluye en la definición del estadio pT3b de la clasificación TNM.3,5 La vesícula seminal intraprostática y el conducto eyaculador pueden ser difíciles de diferenciar, y la afectación de estas estructuras debe considerarse como intraprostático (pT2) y no como enfermedad pT3b.

## EXAMEN DE LOS GANGLIOS LINFÁTICOS

Para la valoración de los ganglios linfáticos y su estadificación en el cáncer de próstata, se recomienda la inclusión total de los ganglios remitidos. Se recomienda contabilizar el número de ganglios positivos/número de ganglios totales, así como medir el diámetro del mayor nódulo linfático metastásico y reportarlo debidamente en el informe (32).

Los ganglios linfáticos regionales valorados en el cáncer de próstata son los ganglios de la pelvis verdadera, que son esencialmente los ganglios pélvicos debajo de la bifurcación de las arterias ilíacas comunes (28). La lateralidad no afecta la clasificación N.

Incluyen los siguientes grupos:

- Pélvicos, NOS
- Hipogástricos
- Obturadores
- Ilíacos (internos, externos o NOS)
- Sacros (laterales, presacros, promontorios [de Gerota] o NOS)

Los ganglios linfáticos distantes se encuentran fuera de los confines de la pelvis verdadera. Se pueden obtener imágenes mediante ecografía, tomografía computarizada, resonancia magnética o linfangiografía. La afectación de ganglios linfáticos distantes se clasifica como M1a. Los ganglios linfáticos distantes incluyen los siguientes:

- Aórtica (lumbar paraaórtica)
- Ilíaca común
- Inguinal, profunda
- Inguinal superficial (femoral)
- Supraclavicular
- Cervical
- Escaleno
- Retroperitoneal, NOS

## ESTADIFICACIÓN PATOLÓGICA (PTNM)

Se recomienda el uso del sistema de estadificación TNM para el carcinoma de próstata del Comité Conjunto Estadounidense sobre Cáncer (AJCC 8ª edición) (42) (Tabla 8)

**Tabla 8.** Estadificación TNM para el carcinoma de próstata del Comité Conjunto Estadounidense sobre Cáncer (AJCC 8ª edición)

| | |
|---|---|
| **Estadio T (Tumor Primario)** | |
| Tx | Tumor primario no valorable |
| T0 | Sin evidencia de tumor primario |
| T1 | Tumor no palpable ni visible por técnicas de imagen |
| T1a | Tumor incidental en < 5% de tejido de RTUp |
| T1b | Tumor incidental en > 5% de tejido de RTUp |
| T1c | Tumor en biopsia prostática por aguja por elevación de PSA |
| T2 | Tumor órgano-confinado |
| T3 | Tumor con extensión a través de cápsula prostática |
| T3a | Tumor extracapsular, unilateral o bilateral o invasión microscópica de cuello vesical |
| T3b | Tumor con invasión de vesículas seminales |
| T4 | Tumor con invasión de esfínter externo, recto o pared pélvica |
| **Estadio N (Ganglios Linfáticos)** | |
| Nx | Ganglios regionales no valorables |
| N0 | Sin invasión de ganglios regionales (por debajo de la bifurcación de las arterias ilíacas comunes) |
| N1 | Metástasis de ganglios regionales (incluye ganglios pélvicos, hipogástricos, obturadores, ilíacos y sacros) |
| **Estadio M (Metástasis a Distancia)** | |
| Mx | Ganglios no regionales no valorables |
| M0 | Sin evidencia de metástasis |
| M1a | Metástasis en ganglios linfáticos no regionales (fuera de pelvis verdadera) |
| M1b | Metástasis ósea |
| M1c | Metástasis en otro órgano con/sin afectación ósea |

Amin MB. AJCC Cancer Staging Manual Eighth Edition. Springer. 2018. 1–1051 p.

El subestadiaje de *pT2*, se elimina de la clasificación «patológica» (pT), manteniéndose en la clasificación «clínica» (cT) ya que carece de claro valor pronóstico (38) y en la EEP. La invasión microscópica del cuello de la vejiga urinaria por el carcinoma se debe registrar como **pT3a**, ya desarrollado en el apartado de EEP.

El estadio **pT4** se define como la invasión directa del recto o la invasión macroscópica de la vejiga urinaria, esfínter externo, los músculos elevadores y/o pared pélvica, con o sin fijación a estructuras vecinas.

## DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO DEL CANCER DE PRÓSTATA: TIPOS Y SUBTIPOS HISTOLÓGICOS

### ADENOCARCINOMA ACINAR

La mayoría de los tumores se originan en los acinos de la próstata periférica (PZ) (79-91 %), menos frecuentemente en la zona transicional (TZA) (8-19 %) y únicamente un 0,3-2,5 % lo hacen en la zona central (CZ). En la última edición de la WHO, 2022 se distinguen los patrones morfológicos de los subtipos propiamente dichos. Se han descrito criterios mayores y menores para el diagnóstico del adenocarcinoma de próstata (43) (Tabla 9) siendo solo patognomónicos la invasión perineural, las glomerulaciones y la fibroplasia mucinosa o micronódulos colagenosos (Figura 5).

### PATRONES MORFOLÓGICOS DEL ADENOCARCINOMA ACINAR

Hay que reconocer los siguientes patrones morfológicos que son infrecuentes y usualmente corresponden a un Gleason de patrón 3:

- Adenocarcinoma acinar con patrón atrófico
- Adenocarcinoma acinar de patrón con positividad aberrante p63
- Adenocarcinoma acinar con patrón espumoso
- Adenocarcinoma acinar con patrón pseudohiperplásico
- Adenocarcinoma acinar con patrón microquístico
- Adenocarcinoma acinar con patrón mucinoso

**Patrón atrófico:** simula una atrofia periférica benigna. En un 30 % de casos se describe ausencia de expresión para la P504S/AMACR y algunos pueden mostrar expresión aberrante para p63 con lo que tener en cuenta la morfología arquitectural infiltrativa y la atipia nuclear con nucléolos para su correcto diagnóstico. Además, los adenocarcinomas previamente tratados con radioterapia u hormonoterapia, pueden asimismo presentar cambios atróficos (Figura 7) (44).

**Patrón de glándulas espumosas:** muestra un abundante citoplasma xantomatoso con núcleo picnótico en el que a mendo no se observa nucléolo. Se observa en un 17 % de casos de biopsias y de prostactectomias con expresión intensa para P504S en más del 90 % de los casos (45), siendo éste un marcador que junto a CD163, ayuda en los casos con poca representatividad en la biopsia y que puede simular un foco de glándulas benignas o un agregado de histiocitos.

**Patrón pseudohiperplásico:** simula morfológicamente una hiperplasia glandular benigna de próstata. Aunque suele asociase a adenocarcinoma acinar usual se puede observar muy frecuentemente en las biopsias sistemáticas. Si bien se mantienen los criterios mayores morfológicos es de gran ayuda la perdida de capa basal en el 100 % y la positividad para AMACR en el 70-80 % de los casos (Figura 6)(46).

**Patrón microquístico:** muestra unas glándulas dilatadas y simula áreas de atrofia quística benigna y frecuentemente se entremezcla con focos de adenocarcinoma acinar típico. Suele observarse en un 11 % de las piezas de prostatectomía (47).

**Patrón mucinoso:** El adenocarcinoma mucinoso o coloide es aquel adenocarcinoma primario acinar prostático con ≥25 % de glándulas con mucina extracelular por lo que este diagnóstico sólo debe hacerse sobre las piezas de prostatectomia (Figura 8). En biopsia se deberá reportar como adenocarcinoma con rasgos mucinosos. La gradación es la misma que para el adenocarcinoma acinar usual siguiendo las características morfológicas de las glándulas (48). Este patrón mucinoso no presenta un significado pronóstico distinto al adenocarcinoma acinar usual (49).

**Tabla 9.** Criterios mayores y menores para el diagnóstico del adenocarcinoma de próstata

| CRITERIOS MAYORES | CRITERIOS MENORES |
|---|---|
| Patrón infiltrativo | Mucina intraluminal azulada |
| Ausencia de capa basal (pérdida de expresión para CK basal 34 β E12 o p63 en casos con morfología no concluyente) | Cristaloides intraluminales (aunque se pueden ver también en alguna hiperplasia glandulares benignas) |
| Atipia nuclear con nucléolo prominente (nucleomegalia o nucleólomegalia) | Figuras de mitosis<br>Adyacente a focos de HGPIN |

**Figura 5.** Fibroplasia mucinosa en el adenocarcinoma acinar prostático.

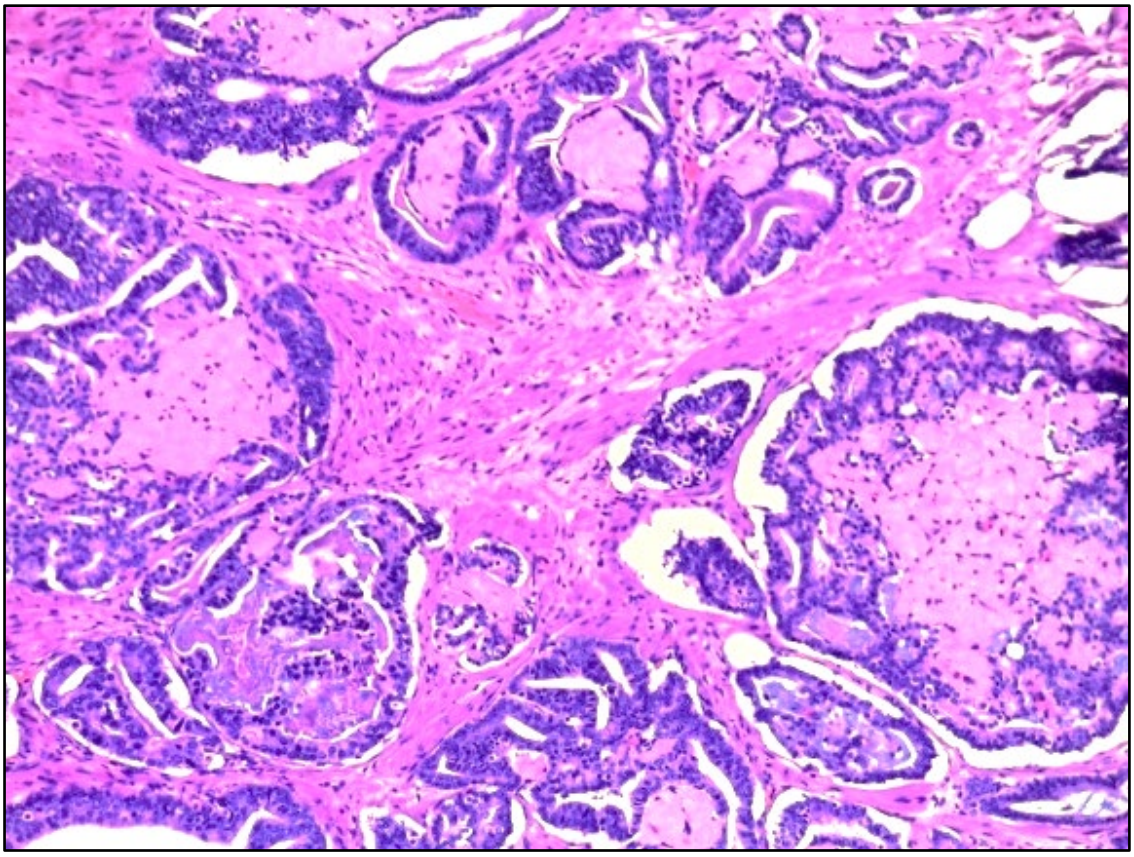


**Figura 6.** Patrón pseudohiperplásico. Técnica de IHQ con doble tinción para p504S (rojo) y CK basal 903 (marrón).

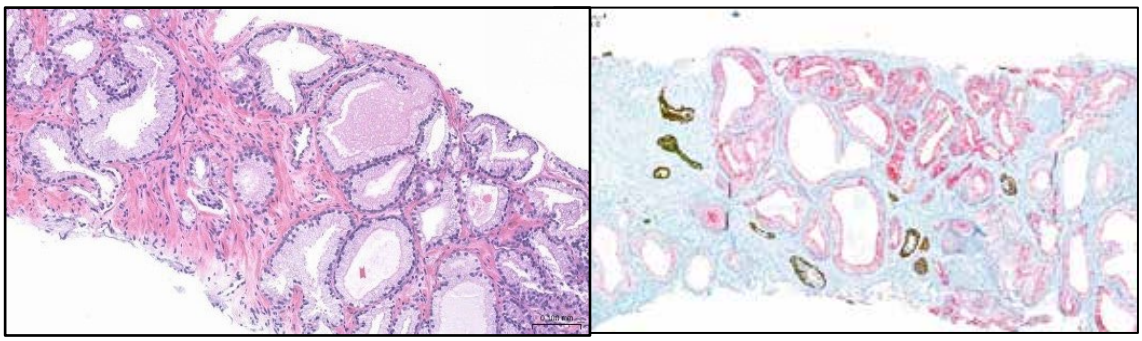


**Figura 7.** Patrón atrófico con IHQ negativa para CK903 y expresión intensa para P504S.

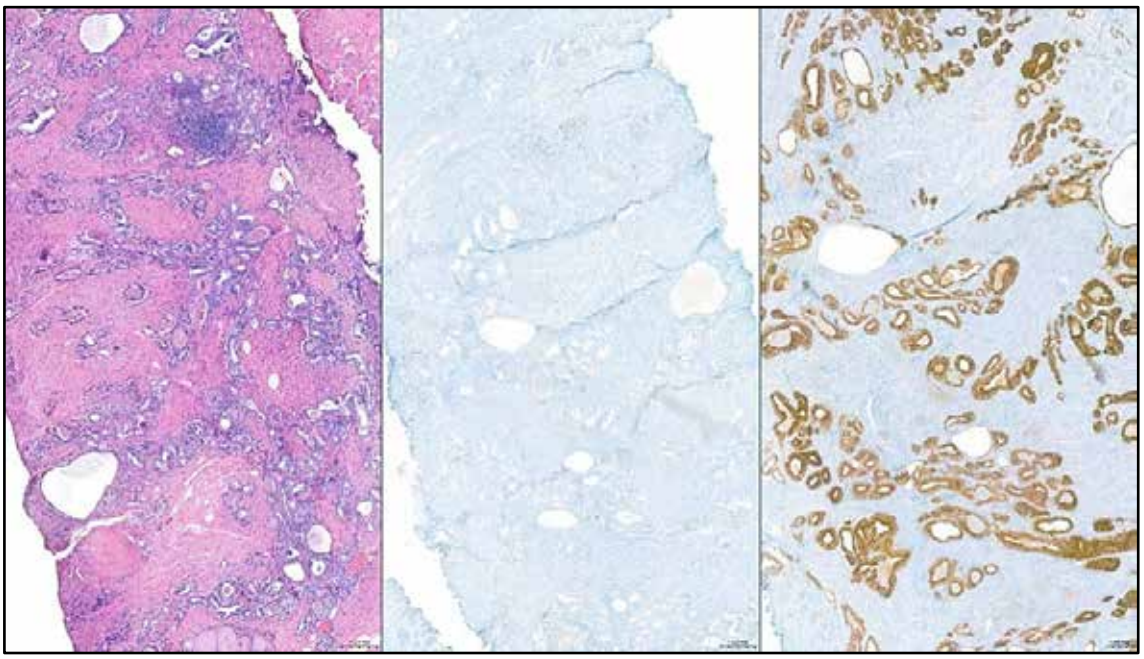
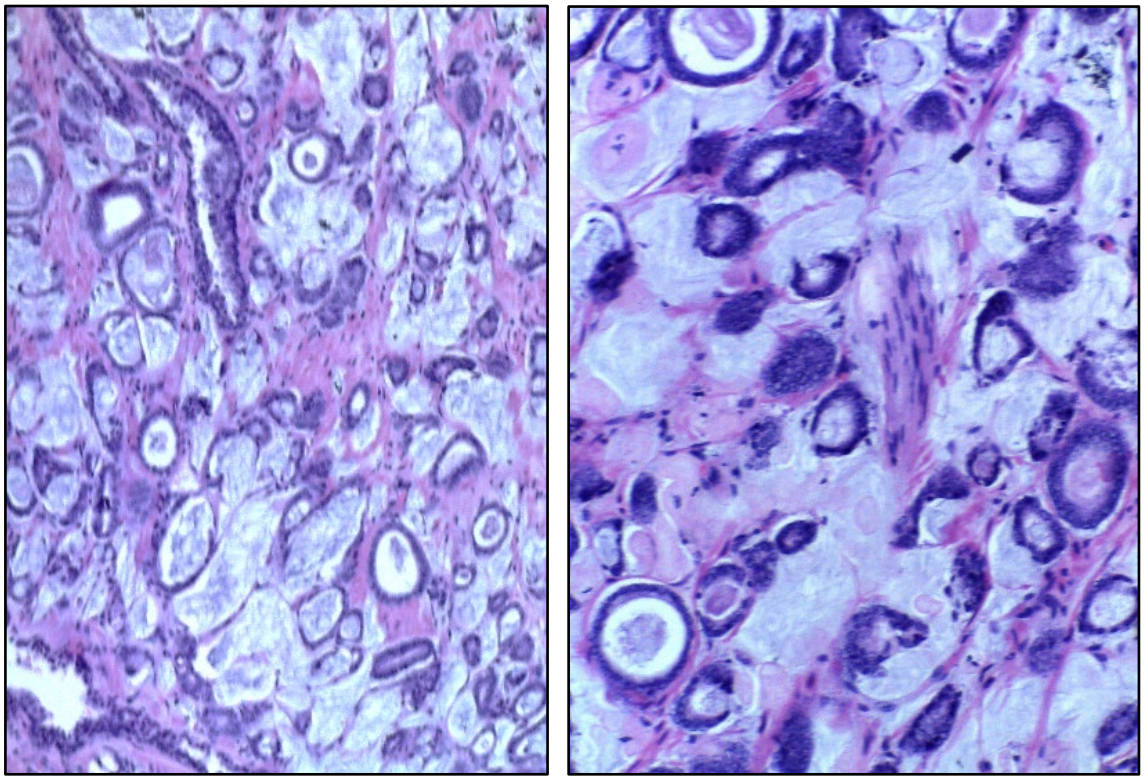


**Figura 8.** Patrón mucinoso con >25 % de mucina extracelular



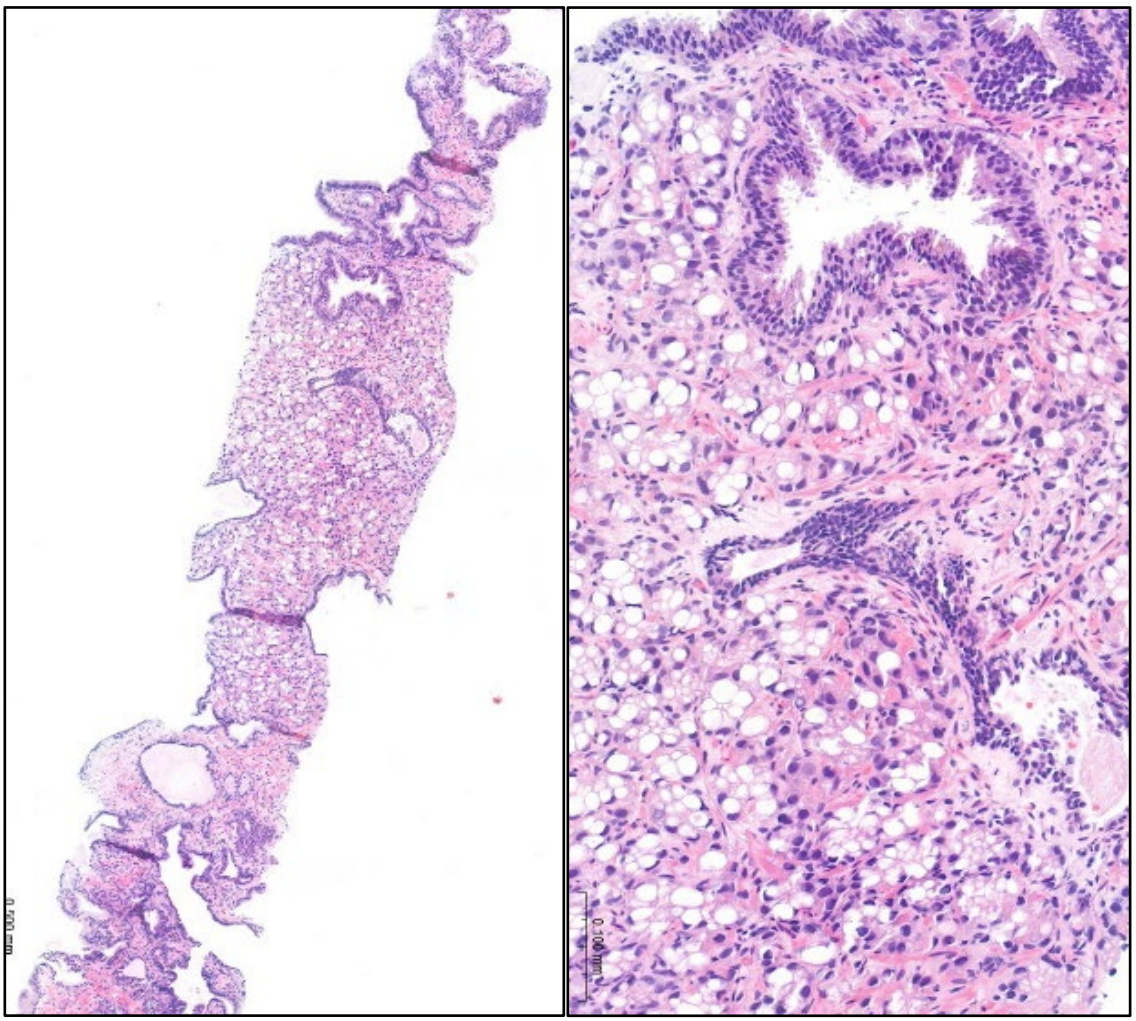
## SUBTIPOS HISTOLÓGICOS DEL ADENOCARCINOMA ACINAR

Se reconocen únicamente según la última clasificación de la WHO (2022) 4 subtipos histológicos:

- Adenocarcinoma de tipo células en anillo de sello
- Adenocarcinoma pleomórfico de células gigantes
- Carcinoma sarcomatoide
- Carcinoma PIN-like

El adenocarcinoma **tipo células en anillo de sello** (ring cells-like) está constituido por células con vacuolas citoplasmáticas rechazando los núcleos hacia la periferia (50). Las tinciones de PAS y Azul Alcian suelen ser negativas ya que las vacuolas no contienen mucina, en tanto expresan PSA y P504S. Para su diagnóstico es necesario un ≥25 % de células de este tipo (Figura 9) Se suele asociar a adenocarcinoma acinar típico, pero con grado de Gleason alto lo que le confiere un peor pronóstico debutando frecuentemente con metástasis (50).

**Figura 9.** Adenocarcinoma de células en anillo de sello.

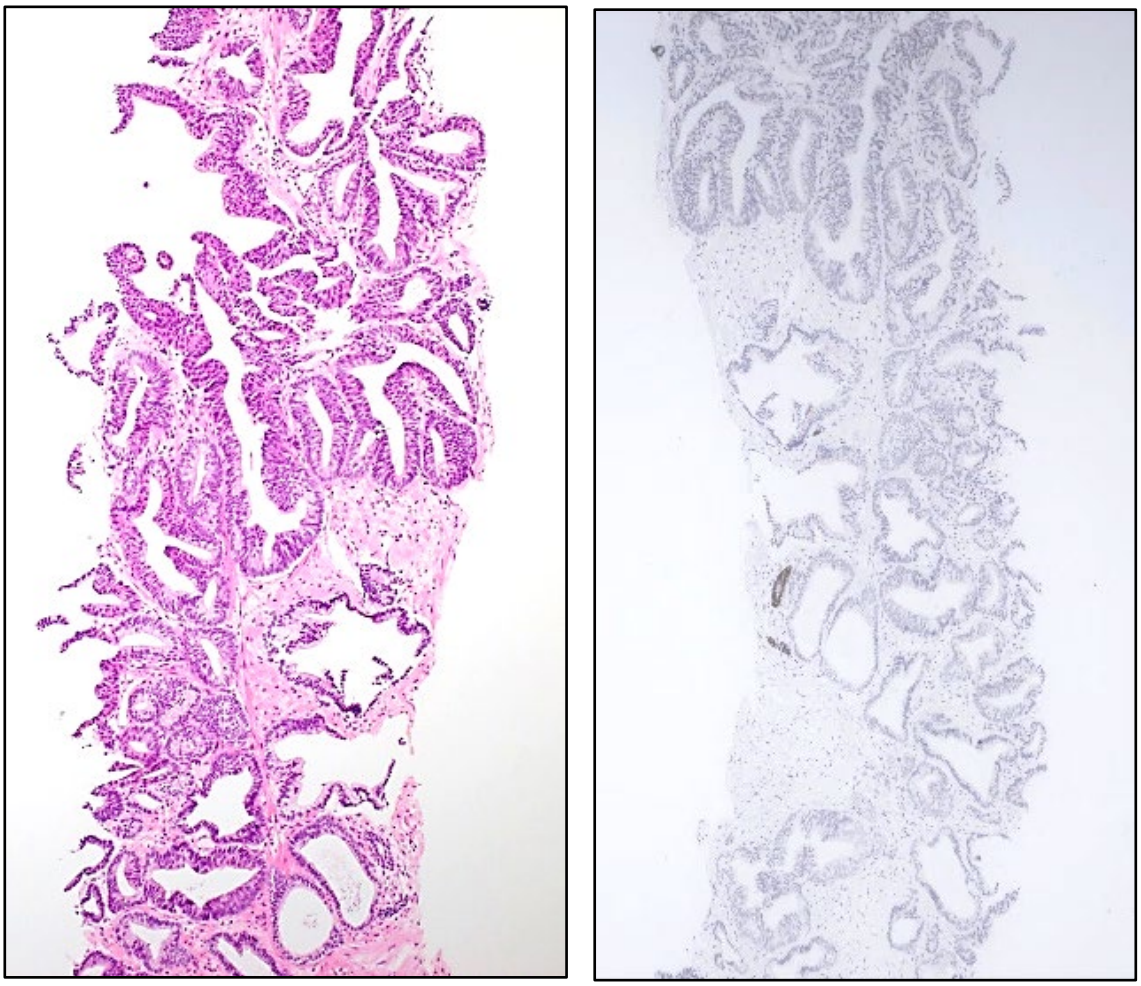


El **carcinoma sarcomatoide** es extremadamente inusual, suele presentarse tras radioterapia de adenocarcinomas usuales de alto grado. Presenta patrón fusiforme pero también puede tener áreas heterólogas con diferenciación ósea, condroide, leiomiomatoso. En estos casos como el PSA es negativo se puede hacer FISH para translocación TMPRSS2:ERG a fin de confirmar origen prostático (51,52).

El **adenocarcinoma pleomórfico de células** gigantes es muy raro con pocos casos descritos en la literatura y con un comportamiento biológico muy agresivo (53). La mayoría se originan tras deprivación androgénica o radioterapia. La morfología es peculiar con células gigantes mononucleares y multinucleadas bizarras con atipa y plemorfismo marcados y abundantes mitosis. Puede asociase a otros subtipos histológicos o adenocarcinoma acinar usual de alto grado. La mayoría de los casos expresan PSA, NKX3.1; P504S y AR (52).

Por último, **el adenocarcinoma PIN like** simula áreas de neoplasia intraepitelial prostática de alto grado con patrón plano, micropapilar o en penacho mostrando epitelios pseudoestratificados o cúbicos, pero con núcleos grandes e hipercromáticos (54,55). Tiene un pronóstico favorable y se grada como patrón 3. Este subtipo histológico plantea el diagnóstico diferencial con adenocarcinoma ductal, pero a diferencia de éste, no muestra ejes fibrovasculares, necrosis ni patrón cribiforme (Figura 10).

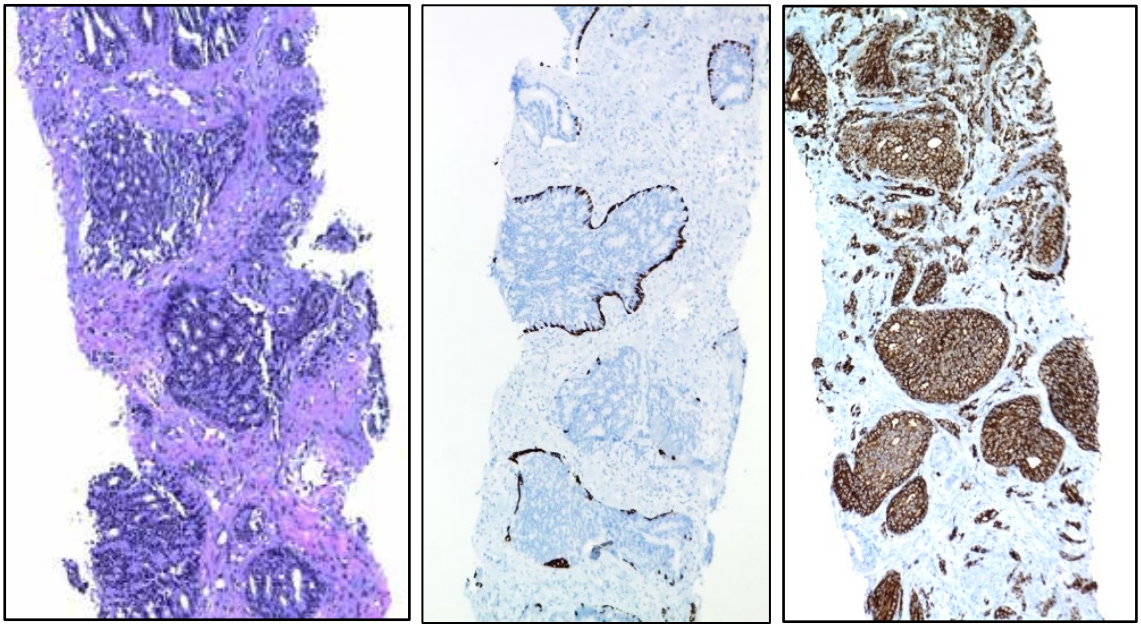
**Figura 10.** Carcinoma PIN-like. La ausencia completa de capa basal con IHQ para CK903 o p63 permite diferenciarlo de las áreas de HGPIN



## CARCINOMA INTRADUCTAL DE PRÓSTATA

Se puede observar componente de carcinoma intraductal (IDC) en 14,4 a 31,1 % de las prostactectomias radicales y en un 2,8 a 14 % de las biopsias prostáticas, generalmente asociado a adenocarcinoma infiltrante (56). En biopsia el IDC puro solo se observa en el 0.06.0.26 % de casos (57). Si bien el IDC en la mayoría de los casos representa una colonización /diseminación intraductal de un adenocarcinoma acinar preexistente de alto grado, en algunos casos puede ser una lesión precursora del adenocarcinoma ductal (58). Los criterios morfológicos para el diagnóstico incluyen arquitectura cribiforme, sólida o raramente micropapilar con comedonecrosis, junto a una marcada atipia citológica a expensas de núcleos grandes, hipercromáticos con mitosis y ocasionales cuerpos apoptóticos (57). Es recomendable realizar técnica de IHQ para CK903 o p63 a fin de demostrar retención de células basales y confirmar componente IDC (Figura 11).

**Figura 11.** Carcinoma Intraductal asociado a adenocarcinoma acinar infiltrante. Expresión para CK903 en células basales del componente Intraductal. Expresión intensa para p504S en ambos componentes Intraductal y acinar.



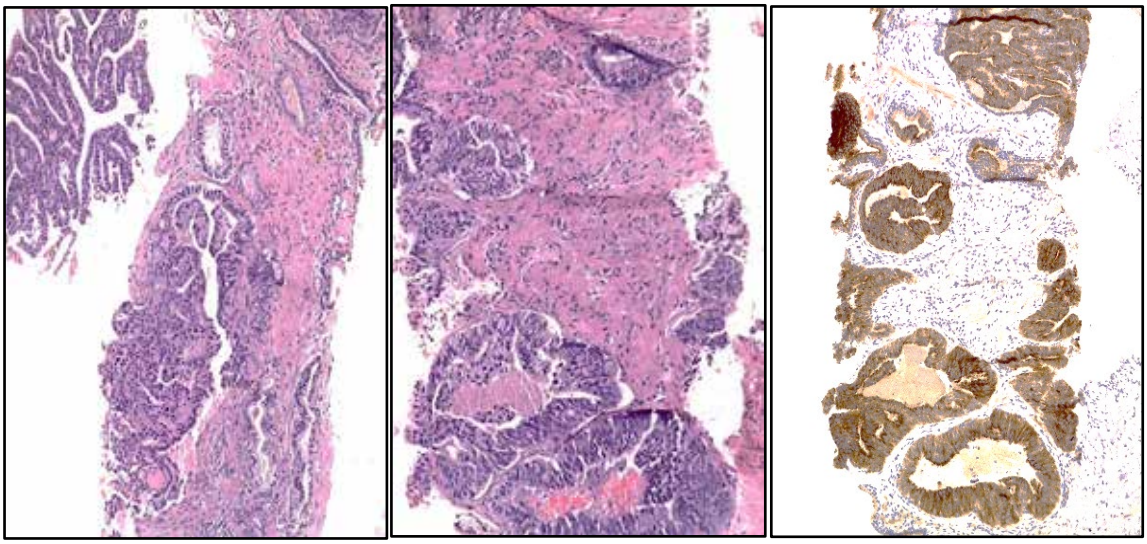
Entre los criterios deseables para el diagnóstico esta la proliferación epitelial expansiva de los ductos pre-existentes, el patrón sólido, cribiforme denso o comedocarcinoma, los núcleos pleomórficos y la presencia de células basales residuales. El tamaño nuclear (6X) ya no es criterio esencial en la actual clasificación. Como criterio deseable es demostrar por inmunohistoquímica la retención parcial de células basales.

Tanto la International Society of Urologic Pathologist (ISUP) como la Genitourinary Society Pathology (GUPS) están de acuerdo en no gradar el IDC puro o aislado, pero todavía es controvertido si se debe gradar en aquellos casos de IDC con adenocarcinoma infiltrante, es decir, si gradar el componente IDC independientemente o incorporarlo al Gleason score del componente infiltrante (33,59). En el protocolo diagnóstico y como se ha explicado anteriormente hay que especificar que clasificación/recomendación (ISUP o GUPS) se ha utilizado.

## ADENOCARCINOMA DUCTAL DE PRÓSTATA

El adenocarcinoma ductal que suele asociarse a adenocarcinoma acinar tiene una incidencia del 2,6 % y solo un 0,2 %-0,4 % en su forma pura. Se origina centralmente muchas veces protruyendo en uretra prostática o cerca del veromontanum y suele tener una arquitectura papilar compleja con ejes fibrovasculares o cribiforme. El epitelio de tapizamiento es pseudoestratificado con células columnares y núcleos hipercromáticos elongados, con nucléolos prominentes y presencia de mitosis. Suele presentar un estroma desmoplásico característico. Es muy frecuente su asociación con adenocarcinoma acinar típico. Para las biopsias es recomendable utilizar el término adenocarcinoma con morfología ductal en tanto que en las prostatectomia el diagnostico de adenocarcinoma ductal requiere ≥50 % de morfología ductal (60,61). El adenocarcinoma ductal debe ser gradado según la ISUP asignándole un patrón 4, excepto cuando muestra comedonecrosis (Figura 12) que se le deberá asignar un patrón 5.

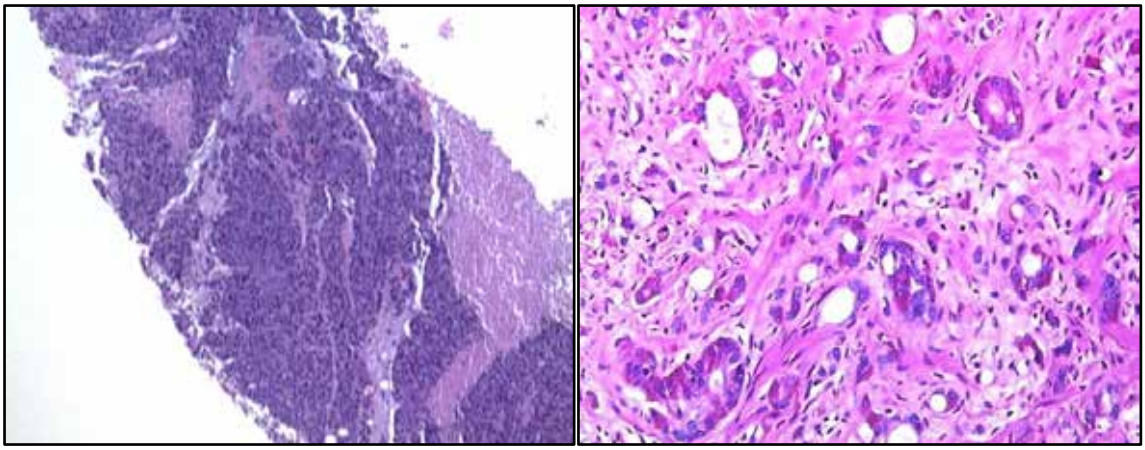
**Figura 12.** Adenocarcinoma ductal prostático. Componente de comedonecrosis, patrón de Gleason 5



## CARCINOMA NEUROENDOCRINO PROSTÁTICO ASOCIADO CON EL TRATAMIENTO (T-NEPC)

El t-NEPC Se observa en el 10-15 % de los pacientes con CaP resistente a la castración y se origina tras un bloqueo androgénico potente con fármacos inhibidores de la señalización de receptores de andrógenos como son enzalutamida o abiraterona. El carcinoma neuroendocrino de alto grado primario en ausencia de tratamiento previo es muy poco frecuente (<1 % de los CaP). En la patogenia del t-NEPC parece que habría una transdiferenciación hacia estirpe neuroendocrina de alto grado (62,63). En la mayoría de los casos se asocia a un componente de adenocarcinoma acinar pobremente diferenciado. La morfología que presenta en la mayoría de los casos es de carcinoma neuroendocrino de célula pequeña (Figura 13a) y menos frecuentemente de tipo célula grande. El carcinoma neuroendocrino relacionado con el tratamiento expresa asimismo marcadores neuroendocrinos (sinaptofisina, cromogranina, CD56 o INSM1) pero hay que tener en cuenta que hasta un 10 % de los casos de t-NEPC pueden tener expresión negativa. La presencia de t-NEPC que suele presentarse con un índice proliferativo de Ki67 muy alto (70-80 %), le confiere al CaP un peor pronóstico con una supervivencia media global de 7 meses. Por el contrario, la denominada diferenciación neuroendocrina Paneth cell- like que puede observarse en glándulas benignas, HGPIN y cáncer (Figura 13b), no ha demostrado tener un impacto negativo sobre el pronóstico y aunque este componente neuroendocrino bien diferenciado se presente con patrón cribiforme o cordonal no deberá gradarse (64,65).

**Figura 13.** Carcinoma neuroendocrino asociado a tratamiento. Morfología de célula pequeña (a) y de Paneth cell-like (b).



## INMUNOHISTOQUIMICA EN DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER DE PRÒSTATA: MARCADORES RECOMENDADOS

En el diagnóstico del cáncer de próstata se utiliza inmunohistoquímica de forma limitada y básicamente para el diagnóstico de:

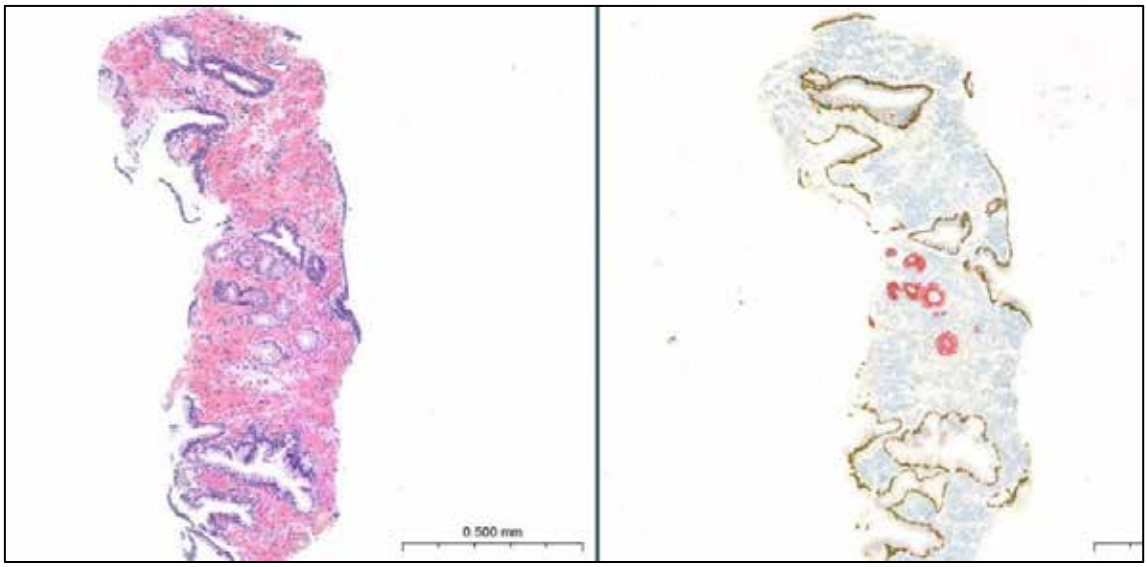
- Pequeño foco glandular atípico sospechoso no concluyente morfológicamente
- Carcinoma Intraductal prostático
- Patrones morfológicos infrecuentes que simulan benignidad (pseudohiperplásico, atrófico…)
- Adenocarcinoma prostático versus otros tumores.

Para el diagnóstico de un pequeño foco de cáncer de próstata en biopsia, se recomienda utilizar siempre dos marcadores: citoqueratinas de alto peso molecular para células basales (CK 34βE12 expresión citoplasmática o p63 expresión nuclear) junto con la A-Methylacyl-Coa:Racemasa (P504S/AMACR) marcados altamente sensible y especifico de adenocarcinoma prostático.

Si bien la ausencia de expresión para CK basal y expresión intensa citoplasmática con refuerzo apical para P504S apoya el diagnóstico de adenocarcinoma hay que tener en cuenta que puede observarse una expresión aberrante para p63 en algunos adenocarcinomas, con un patrón morfológico con frecuencia atrófico (66–68). Por otra parte, la expresión para citoqueratinas de alto peso molecular puede ser positiva discontinua en focos de adenosis, atrofia parcial o PIN de alto grado.

La expresión de P504S/AMACR tiene una sensibilidad del 82-100 % en el adenocarcinoma prostático (69,70) pero puede ser positiva leve y focal en un 4 % de glándulas normales y moderada sin refuerzo apical en un 50-65 % de PIN de alto grado. En el 30 % de los adenocarcinomas con patrón pseudohiperplásico, no se observa inmunoexpresión para P504S/AMACR (Farinola 2004). En definitiva, para diagnóstico de los pequeños focos atípicos sospechosos o de patrones morfológicamente distintivos se recomienda usar P504S/AMACR siempre en combinación con CK de alto peso molecular siendo preferible la CK34 βE12 sobre la p63 (68,71,72). La doble tinción cocktail con ambos anticuerpos 34βE12 /p63 y P504S y cromógenos diferentes, se ha demostrado útil en estos casos (69,73,74) (Figura 14).

**Figura. 14.** Pequeño foco de adenocarcinoma en un cilindro prostático expresando P504s (cromógeno rojo) sin inmunotinción para CK basal 34 βE12 (cromógeno marrón en glándulas benignas adyacentes)



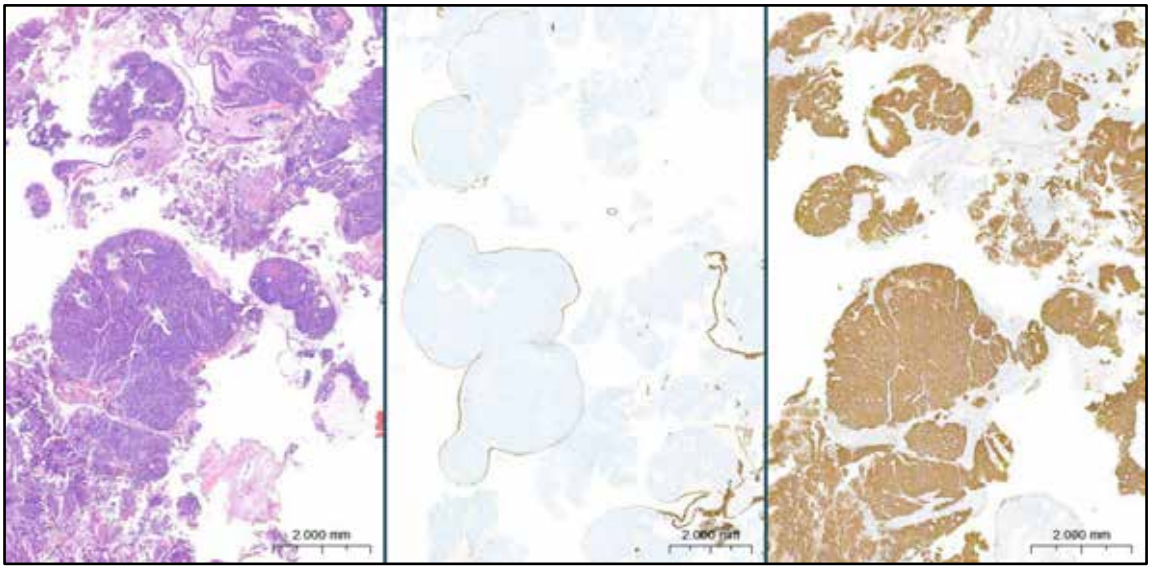

Para el diagnóstico de carcinoma Intraductal (IDC-P) aislado en biopsia prostática se recomienda, como ya se ha comentado anteriormente, inmunohistoquímica con un marcador de células basales para demostrar retención parcial de las mismas. El diagnóstico diferencial con el PIN de alto grado de patrón cribiforme o la proliferación Intraductal atípica (AIP) es esencialmente basado en los criterios morfológicos (4).

Para el diagnóstico de adenocarcinoma acinar prostático con patrones histológicos inusuales que morfológicamente pueden simular benignidad como el patrón atrófico que puede verse de novo o post-hormonoterapia o radioterapia previa o el patrón pseudohiperplásico, va a ser de ayuda un marcador de células basales como la p63 y AMACR. Hay que tener en cuenta que la expresión para AMACR en el patrón atrófico puede ser negativa hasta en un 30 % de los casos y que existe como ya se ha comentado, el adenocarcinoma con positividad aberrante para p63 (75,76).

Por último, la inmunohistoquímica puede ser de utilidad en el diagnóstico diferencial del adenocarcinoma prostático con otros tumores:

*Carcinoma urotelial*: no es infrecuente que en una RTU por sospecha de tumor vesical en cuello/trígono vesical se plantee el diagnóstico diferencial entre carcinoma primario vesical urotelial de alto grado con patrón sólido y un adenocarcinoma acinar primario prostático de alto grado infiltrando vejiga. Un marcador de utilidad será la CK basal 34βE12 que se expresa en el 90 % de los carcinomas uroteliales y solo en un 8 % de los adenocarcinomas prostáticos (77), así como GATA 3 que se expresa en urotelio junto a un marcador prostático muy útil en localizaciones extra prostáticas y metástasis de origen prostático. NKX3.1 se expresa en el epitelio secretor prostático de glándulas prostáticas benignas y malignas ha demostrado excelente sensibilidad (98,6 %) y especificidad (99,7 %) en discriminar entre cáncer prostático y cáncer urotelial con expresión intensa nuclear en glándulas prostáticas benignas y malignas (77,78) (Figura 15).

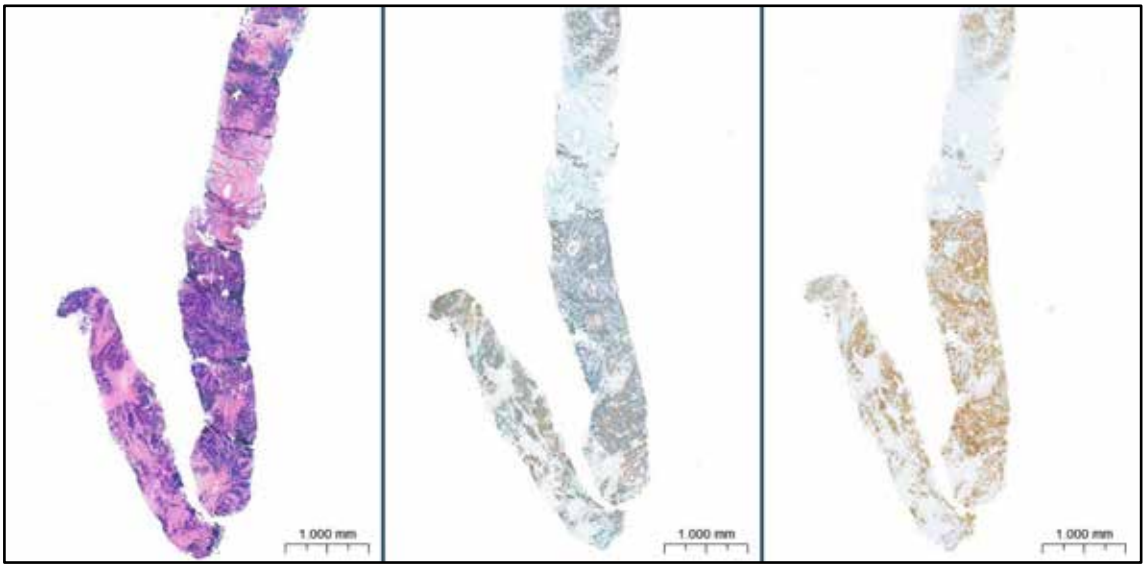
**Figura 15.** (A) Adenocarcinoma ISUP 5 en una muestra de RTU vesical (B) con negatividad para GATA 3 (control interno en tapizamiento urotelial) y (C) expresión intensa para NKX3.1



Recientemente se ha descrito una expresión intensa para GATA 3 en un 2,5 % de los adenocarcinomas prostáticos metastásicos (79) por lo que es recomendable hacer tres marcadores ante este diagnóstico diferencial

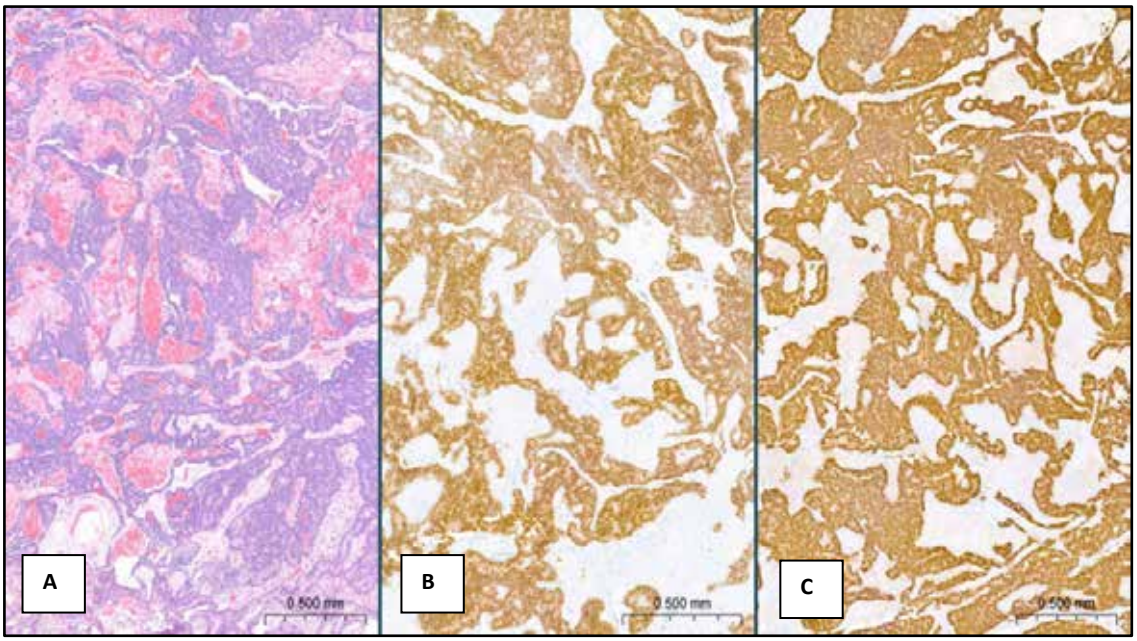
*Carcinoma neuroendocrino:* El carcinoma neuroendocrino (NEC) de célula pequeña/intermedia o célula grande primario prostático y el NEC prostático relacionado con el tratamiento expresan los marcadores neuroendocrinos como Sinaptofisina, CD56, INSM1 y Cromogranina A. Se recomienda hacer al menos dos marcadores neuroendocrinos para su diagnóstico (80) (Figura 16). Además, en estos casos se puede observar inmunotinción nuclear para p53 y TTF1 en el 50 % de los casos y receptores de andrógenos (81). La morfología del carcinoma neuroendocrino primario y el relacionado con tratamiento es superponible y el *gold estándar* para su diagnóstico (82). Lo único que los diferencia es el componente de adenocarcinoma acinar usual e historia de terapia antiandrogenica previa en el NEC relacionado con tratamiento.

**Figura 16.** (A) Carcinoma neuroendocrino de célula pequeña primario prostático con HE. Expresión focal para Sinaptofisina (B) y expresión intensa nuclear para INSM1(C)



*Metástasis de origen prostático*: La International Society of Urological Pathology (38) recomienda el uso de PSA, PAP Y NKX3.1 como marcadores para identificar las metástasis de origen prostático, teniendo en cuenta que PSA y PAP pueden ser negativas tras terapia con deprivación androgénica (Figura 17).

**Figura 17.** Metástasis de carcinoma indiferenciado (A) que expresa intensamente NKX3.1 (B) y RA Receptores de andrógenos (C) corroborando origen prostático.




## BIOMARCADORES MOLECULARES EN EL DIAGNOSTICO DEL CÁNCER DE PRÓSTATA

En los últimos años, el creciente interés en la biología tumoral del cáncer de próstata ha permitido el descubrimiento de múltiples biomarcadores, que se han integrado con los métodos de diagnóstico, las evaluaciones de riesgos y la selección de tratamientos actuales. Los biomarcadores guían las decisiones de tratamiento al identificar las terapias que tienen más probabilidades de ser efectivas para un paciente específico. Esto evita el tratamiento excesivo y minimiza el riesgo de efectos adversos. Un tratamiento personalizado basado en perfiles de biomarcadores, tomando en consideración la carga familiar, puede conducir a mejores resultados para el paciente, incluidas tasas de respuesta más altas, una supervivencia más prolongada y una mejor calidad de vida (83).

El estudio molecular en cáncer de próstata, va dirigido a grandes rasgos, a la estratificación de riesgo de cada paciente y, por otra parte, a la selección del tratamiento personalizado más idóneo.

Los cambios genéticos identificados con mayor frecuencia en el CaP son los siguientes.

### BRCA1/BRCA2

Las mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2 (83) son los indicadores más destacados de CaP. Las mutaciones BRCA2 se han asociado con una mayor susceptibilidad a desarrollar CaP (2,5–8,6 veces mayor a la edad de 65 años), así como con una aparición más temprana de la enfermedad, crecimiento tumoral agresivo, metástasis y menores tasas de supervivencia. Los pacientes con mCRPC con mutaciones BRCA2 han mostrado una notable inestabilidad genómica en el eje génico MED12L/MED12,

el cual está estrechamente relacionado con la enfermedad metastásica. Esto explica la agresividad única de los tumores que contienen estas anomalías genéticas [89]. Recientemente, los inhibidores de PARP como rucaparib y olaparib, aprobados por la FDA, han demostrado ser capaces de detener la respuesta al daño del ADN en el cáncer de próstata con mutaciones BRCA1 y/o BRCA2. Esto retrasa eficazmente la progresión del cáncer en situaciones refractarias o metastásicas (83).

**Fusiones de genes ETS**

Aproximadamente el 50 % de los pacientes con cáncer de próstata de ascendencia caucásica tienen fusiones detectables de genes ETS (84). La fusión de la proteasa transmembrana regulada por andrógenos, serina 2 (TM-PRSS2) con ERG (TMPRSS2:ERG) es la más frecuente, observándose en >50 % de los pacientes estudiados (83).

**Receptor de andrógenos (AR)**

El AR es un factor de transcripción que controla el crecimiento y desarrollo de la próstata. Las mutaciones en su dominio de unión al ligando contribuyen al PCa sensible a hormonas (HSPC) y al mCRPC, acompañados de otros cambios en el AR, como la amplificación y los reordenamientos estructurales (84). Por el contrario, el PCa sin tratamiento hormonal rara vez presenta alteraciones en el AR (85). Curiosamente, las mutaciones del AR son clínicamente relevantes en el 34 % de los pacientes con CRPC, lo que indica su posible capacidad de respuesta a las terapias dirigidas al AR. La variante de empalme AR 7 (AR-V7) tiene una deleción en el exón 7. Esta deleción hace que el dominio de unión al ligando esté ausente, lo que lo hace constitutivamente activo y causa resistencia a AR (86). AR-V7 está vinculado al desarrollo de CRPC y se asocia con una supervivencia reducida en pacientes tratados con enzalutamida o abiraterona (86,87). En particular, los pacientes con un estado AR-V7 positivo que están recibiendo tratamiento con taxanos demuestran una supervivencia mejorada, lo que sugiere que AR-V7 tiene el potencial de pronosticar la respuesta a la terapia en mCRPC. La guía de AUA/ASTRO/SUO destaca a AR-V7 como un indicador potencial para pronosticar varias reacciones sistémicas al tratamiento y mejorar los resultados a largo plazo (83,86–89).

**Estudio molecular para estratificación de riesgo en CaP**

Las pautas de cáncer de próstata de NCCN para la estratificación de riesgo ha incluido distintas plataformas diagnósticas, entre ellas, Prolaris (Myriad Genetics), Decipher (GenomeDx) y Oncotype DX Prostate Cancer (Genomic Health) como opciones para ayudar con la estratificación del riesgo en hombres con riesgo bajo o riesgo intermedio favorable de cáncer de próstata recién diagnosticado (4).

La plataforma Prolaris utiliza un análisis cuantitativo de la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa para medir los niveles de expresión del ARNm de 31 genes de progresión del ciclo celular, basados principalmente en la proliferación, y proporciona una evaluación molecular independiente de la progresión de la enfermedad. Se clasifica a los tumores como menos agresivos, más agresivos o consistentes con el riesgo promedio del grupo de riesgo clínico relevante basado en la NCCN y proporciona una estimación de la mortalidad específica por cáncer de próstata a 10 años de un paciente. Sin embargo, no hay resultados de estudio de Prolaris en poblaciones de pacientes con vigilancia activa (4,90,91).

La plataforma OncotypeDx Genomic Prostate Score ha estudiado predominantemente pacientes de bajo riesgo y riesgo intermedio favorable, donde se asocia con un mayor riesgo de patología adversa en la prostatectomía radical y mejora el índice de concordancia del clasificador de riesgo clínico-patológico

de la Evaluación del riesgo de cáncer de próstata (CAPRA). El OncotypeDx Genomic Prostate Score se ha probado en el contexto de la vigilancia activa, donde se asoció con un mayor riesgo de patología

adversa y recurrencia bioquímica en pacientes que se sometieron a una prostatectomía radical posterior (4).

La plataforma Decipher de GenomeDx Biosciences cuantifica los niveles de expresión de 22 transcripciones de genes involucrados en la adhesión y migración celular, el control del ciclo celular, la modulación del sistema inmunológico, la diferenciación celular y la señalización de andrógenos en tejido tumoral fijado con formaldehido. El resultado arroja un valor único, en un rango de 0 (mal pronóstico) a 1 (mejor pronóstico). En la práctica, los tumores se clasifican en 3 grupos de riesgo: bajo, intermedio y alto. Esto se ha documentado para escenarios clínicos post-prostatectomía de cáncer de riesgo medio y alto, incluida la recurrencia bioquímica y la respuesta a la terapia adyuvante de radioterapia, así como para predecir metástasis en pacientes de bajo riesgo que son candidatos para vigilancia activa (4).

Se necesitan más estudios para establecer cuál es la mejor plataforma y cómo incorporarlas en la toma de decisiones clínicas, así como evaluación de coste-beneficio, dado el alto precio de cada estudio (1,4,27).

**Estudio molecular para selección de tratamientos en CaP**

En los últimos años, se han estudiado biomarcadores para selección de tratamientos en CaP, a través del estudio de mutaciones en los genes de la vía de reparación del ADN, los cuales se encuentran enriquecidos en el cáncer de próstata de alto riesgo. Las alteraciones en la vía de reparación homóloga, que incluye mutaciones en los genes BRCA2, BRCA1 y ATM, se observan en casi el 20 % de los casos de cáncer de próstata avanzado resistente a la castración. Es importante destacar que casi la mitad de los casos metastásicos con defectos de recombinación homóloga tienen mutaciones de la línea germinal, lo que representa cerca del 10 % de los hombres con cáncer de próstata resistente a la castración (83).

La diferencia que se observa en las alteraciones de defectos de recombinación homóloga de la línea germinal en el cáncer de próstata metastásico en comparación con el cáncer de próstata primario, respalda numerosos estudios que sugieren que estas alteraciones están asociadas con el desarrollo de una enfermedad agresiva (92). De hecho, las alteraciones de la línea germinal en BRCA2 y ATM son significativamente más comunes en el cáncer de próstata primario letal en comparación con el cáncer de próstata primario indolente y están asociadas con la reclasificación de grado en cohortes de vigilancia activa (92). Además, en subconjuntos histológicos agresivos de cáncer de próstata primario (incluido el cáncer de próstata ductal e intraductal y los tumores del grupo de grado 5), la prevalencia de mutaciones de defectos de recombinación homóloga puede acercarse a la observada en la enfermedad metastásica (61,93). De manera similar, los defectos en los genes involucrados en la vía de reparación de del ADN (MMR) se observan en hasta el 10 % de los casos de cáncer de próstata resistente a la castración, en comparación con menos del 3 % de los cánceres de próstata primarios (92). Las mutaciones de MMR también pueden estar enriquecidas entre los tumores primarios con histología agresiva, incluidos los tumores ductales y de grado 5 (92). En relación con las alteraciones de defectos de recombinación homóloga, menos de las mutaciones de MMR en el cáncer de próstata son de línea germinal, aunque el cáncer de próstata está enriquecido entre los pacientes con síndrome de Lynch (83,92,93).

Estos resultados tienen implicaciones importantes para el asesoramiento genético de los pacientes y la toma de decisiones terapéuticas.

Actualmente, las pautas de NCCN recomiendan pruebas de línea germinal en pacientes de alto riesgo con cáncer de próstata clínicamente localizado, incluidos todos los pacientes con tumores de grado 4 o 5 o pacientes en cualquier grupo de riesgo con carcinoma intraductal en la biopsia (61). Dados los resultados prometedores en el cáncer de próstata con defectos de recombinación homóloga tratados con inhibidores de la ADP ribosilasa, como el olaparib y la reciente aprobación de pembrolizumab por parte de la Administración de Alimentos y Medicamentos, para todos los tumores

en progresión con defectos de MMR, debería considerarse la posibilidad de ofrecer secuenciación genómica somática para hombres con cáncer de próstata metastásico (61,83,92).

Aunque la presencia de distintos biomarcadores ha proporcionado más información que los factores clínicos habituales, identificar la utilidad óptima de los biomarcadores del cáncer de próstata sigue siendo un desafío. En primer lugar, el procedimiento de identificación de estos instrumentos de clasificación molecular

es complejo y requiere una excelente calidad de la muestra. Es imperativo agilizar los procesos de prueba y reducir los gastos asociados con las mismas. Además, la creciente variedad de biomarcadores accesibles para la focalización terapéutica indica la próxima llegada de terapias de precisión que pueden ayudar a grupos más grandes de pacientes (94).

El éxito derivado de las distintas plataformas y estudios moleculares depende en gran medida de la calidad de tejido utilizado para su valoración. Se han realizado estudios sobre biopsia líquida y sobre tejido tumoral fresco y parafinado, cada una con sus ventajas y limitaciones. Globalmente, el tejido tumoral o metastásico puede detectar mutaciones somáticas y de la línea germinal, que podrían ser relevantes para iniciar terapias dirigidas, así como proporcionar información sobre translocaciones y amplificaciones. Las condiciones preanalíticas como la fijación o descalcificación, en casos de muestras de metástasis óseas, o el tiempo de parafinado, en caso de muestras primarias antiguas, así como características inherentes al tumor, como la heterogeneidad tumoral, podrían disminuir la eficacia de la prueba.

Se recomienda establecer en cada centro un circuito de estudio molecular multidisciplinar, para los pacientes con CaP, donde se especifique según la plataforma a utilizar y los resultados que se quieran obtener, el tipo de muestra idóneo a utilizar (tumor primario vs metastásico), el tipo de fijación en caso de muestras parafinadas, sistema de descalcificación (EDTA), tiempos aceptables de parafinado (bajo las condiciones de archivo particulares de cada centro) para de esta manera garantizar la buena calidad de las muestras (94).

En los últimos años, el tratamiento del cáncer de próstata metastásico ha experimentado una evolución exponencial, con la aprobación de numerosos fármacos quimioterapéuticos y tratamientos hormonales. Con la llegada de nuevos descubrimientos en el campo de los biomarcadores y las pruebas genéticas para el cáncer de próstata metastásico, la medicina de precisión para pacientes con un estado de mutación está ahora al alcance de la mano. Los pacientes con mutaciones somáticas o de línea germinal de HRR son elegibles para el tratamiento con agentes dirigidos como PARPi. Además, existen implicaciones más amplias, como la implementación de estrategias de reducción de riesgo para segundos cánceres, la realización de pruebas a familiares de primer y segundo grado para identificar portadores de mutaciones y la vigilancia activa de los miembros de la familia para permitir la detección del alto riesgo de cánceres relacionados (94).

**Bibliografía**


1. Cornford PTD van den BR. EAU-EANM-ESTRO-ESUR-ISUP-SIOG Guidelines on Prostate Cancer. EAU Guidel. 2024;
2. Kenigsberg A, Renson A, Rosenkrantz A, Huang R, Wysock J, Taneja S, et al. Optimizing the Number of Cores Targeted During Prostate Magnetic Resonance Imaging Fusion Target Biopsy. Eur Urol Oncol. 2018 Oct;5:418–25.
3. Srigley, John Delahunt, Brett Egevad, Lars Samaratunga, Hemamali Evans A. Optimising pre-analytical factors affecting quality of prostate biopsies: the case for site specific labelling and single core submission. Pathology. 2014 Dec;(46).
4. Epstein JI, Amin MB, Fine SW, Algaba F, Aron M, Baydar DE, et al. The 2019 genitourinary pathology society (GUPS) white paper on contemporary grading of prostate cancer. Vol. 145, Archives of Pathology and Laboratory Medicine. College of American Pathologists; 2021. p. 461–93.
5. Amin M, Boccon-Gibod L, Egevad L, Epstein JI, Humphrey PA, Mikuz G, Newling D, Nilsson S, Sakr W, Srigley JR, Wheeler TM MR. Prognostic and predictive factors and reporting of prostate carcinoma in prostate needle biopsy specimens. Scand J Urol Nephrol Suppl. 2005 May;216:20–33.
6. C Parker, S Gillessen, A Heidenreich AHEGC. Cancer of the prostate: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2015 Sep;26:69–77.
7. Vincenzo Scattoni, Alexandre Zlotta, Rodolfo Montironi, Claude Schulman, Patrizio Rigatti FM. Extended and saturation prostatic biopsy in the diagnosis and characterisation of prostate cancer: a critical analysis of the literature. Eur Urol. 2007;52:1309–22.
8. Heidenreich A, Bellmunt J, Bolla M, Joniau S, Mason M, Matveev V, Mottet N, Schmid HP, van der Kwast T, Wiegel T ZFEA of U. EAU guidelines on prostate cancer. Part 1: screening, diagnosis, and treatment of clinically localised disease. Eur Urol. 2011 Jan;59:61–71.
9. Tamihardja J, Zenk M, Flentje M. MRI-guided localization of the dominant intraprostatic lesion and dose analysis of volumetric modulated arc therapy planning for prostate cancer. Strahlentherapie und Onkol. 2019;195(2):145–52.
10. Briganti A, Fossati N, Catto JWF, Cornford P, Montorsi F, Mottet N, Wirth M VPH. Active Surveillance for Low-risk Prostate Cancer: The European Association of Urology Position in 2018. Eur Urol. 2018 Sep;74:357–68.
11. Amin MB. GLEASON GRADING AFTER THE ISUP & THE WHO 2015 CONFERENCE. 2015;(1960).
12. Van Der Kwast T, Bubendorf L, Mazerolles C, Raspollini MR, Van Leenders GJ, Pihl CG, et al. Guidelines on processing and reporting of prostate biopsies: The 2013 update of the pathology committee of the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC). Virchows Arch. 2013 Aug;463(3):367–77.
13. Smith SC, Gandhi JS, Moch H, Aron M, Compérat E, Paner GP, et al. Similarities and Differences in the 2019 ISUP and GUPS Recommendations on Prostate Cancer Grading: A Guide for Practicing Pathologists. Adv Anat Pathol. 2021;28(1):1–7.
14. Epstein JI. Gleason score 2-4 adenocarcinoma of the prostate on needle biopsy: a diagnosis that should not be made. Am J Surg Pathol. 2000 Apr;24:477–8.
15. Fine; SW, Amin M, Berney D, Bjartell A, Egevad L, Epstein J, et al. A contemporary update on pathology reporting for prostate cancer: biopsy and radical prostatectomy specimens. Eur Urol. 2012 Jul;62:20–39.

16. Evans AJ. Treatment effects in prostate cancer. Mod Pathol. 2018 Jan;31:110–21.

17. Zelefsky MJ, Reuter VE, Fuks Z, Scardino P, Shippy A. Influence of Local Tumor Control on Distant Metastases and Cancer Related Mortality After External Beam Radiotherapy for Prostate Cancer. J Urol. 2008 Apr;179(4):1368–73.

18. Lucia MS, Epstein JI, Goodman PJ, Darke AK, Reuter VE, Civantos F, et al. Finasteride and high-grade prostate cancer in the prostate cancer prevention trial. J Natl Cancer Inst. 2007 Sep;99(18):1375–83.

19. Epstein JI, Zelefsky MJ, Sjoberg DD, Nelson JB, Egevad L, Magi-Galluzzi C, et al. A Contemporary Prostate Cancer Grading System: A Validated Alternative to the Gleason Score. Eur Urol. 2016 Mar;69(3):428–35.

20. Paner G, Srigley J, Harik L, Amin M, Eggener S, Huang J, et al. Protocol for the Examination of Prostate Needle Biopsies From Patients With Carcinoma of the Prostate Gland: Specimen Level Reporting [Internet]. 2023. Available from: www.cap.org/cancerprotocols

21. Karram S, Trock BJ, Netto GJ, Epstein JI. Should intervening benign tissue be included in the measurement of discontinuous foci of cancer on prostate needle biopsy? Correlation with radical prostatectomy findings. Vol. 37, International Braz J Urol. 2011. p. 668–9.

22. Epstein JI. Prognostic significance of tumor volume in radical prostatectomy and needle biopsy specimens. J Urol. 2011 Sep;186:790–7.

23. Brimo F, Vollmer RT, Corcos J, Kotar K, Bégin LR, Humphrey PA, et al. Prognostic value of various morphometric measurements of tumour extent in prostate needle core tissue. Histopathology. 2008 Aug;53(2):177–83.

24. Berney DM, Algaba F, Camparo P, Compérat E, Griffiths D, Kristiansen G, et al. Variation in reporting of cancer extent and benign histology in prostate biopsies among European pathologists. Virchows Arch. 2014 May;464(5):583–7.

25. Khan F, Imam A, Hernandez D. Current Trends in Incidence and Management of T1a and T1b Prostate Cancer. Cureus. 2023 Jun;15:e40224.

26. Capitanio U. Contemporary management of patients with T1a and T1b prostate cancer. Curr Opin Urol. 2011 May;21:252–6.

27. Cornford P, van den Bergh RCN, Briers E, Van den Broeck T, Cumberbatch MG, De Santis M, et al. EAU-EANM-ESTRO-ESUR-SIOG Guidelines on Prostate Cancer. Part II—2020 Update: Treatment of Relapsing and Metastatic Prostate Cancer[Formula presented]. Eur Urol. 2021;79(2):263–82.

28. European Association of Urology. EAU Guidelines. Edn. presented at the EAU Annual Congress Paris 2024. EAU uroweb. 2024;

29. Eifler JB, Feng Z, Lin BM, Partin MT, Humphreys EB, Han M, et al. An updated prostate cancer staging nomogram (Partin tables) based on cases from 2006 to 2011. BJU Int. 2013;111(1):22–9.

30. Kweldam CF, van Leenders GJ, van der Kwast T. Grading of prostate cancer: a work in progress. Histopathology. 2019;74(1):146–60.

31. S Adamis IMV. Defining prostate cancer risk after radical prostatectomy. Eur J Surg Oncol. 2014 May;40:496–504.

32. Krishnamurti UG, Patrick ;, Fitzgibbons L, Connolly JL. Protocol for the Examination of Resection Specimens from Patients with Invasive Carcinoma of the Breast With guidance from the CAP

Cancer and CAP Pathology Electronic Reporting Committees [Internet]. 2023. Available from: www.cap.org/cancerprotocols

33. Varma M, Delahunt B, Egevad L, Samaratunga H, Kristiansen G. Intraductal carcinoma of the prostate: a critical re-appraisal. Vol. 474, Virchows Archiv. Springer Verlag; 2019. p. 525–34.

34. Epstein JI, Carmichael MJ, Pizov G, Walsh PC. Influence of capsular penetration on progression following radical prostatectomy: A study of 196 cases with long-term followup. J Urol. 1993 Jul;150(1):135–41.

35. Marks R, Lin H, Koch MO, Cheng L. Positive-block ratio in radical prostatectomy specimens is an independent predictor of prostate-specific antigen recurrence. Vol. 33, International Braz J Urol. 2007. p. 440–1.

36. Sung M-T, Lin H, Koch MO, Davidson DD, Cheng L. Radial distance of extraprostatic extension measured by an ocular micrometer is an independent predictor of prostate-specific antigen recurrence: A new proposal for the substaging of pT3a prostate cancer [3]. Vol. 32, American Journal of Surgical Pathology. 2008. p. 337–8.

37. Jeong B, Chalfin H, Lee S, Feng Z, Epstein J, Trock B, et al. The relationship between the extent of extraprostatic extension and survival following radical prostatectomy. Eur Urol. 2015 Feb;67:342–6.

38. Egevad L, Srigley JR, Delahunt B, Amin M, Berney DM, Billis A, et al. International society of urological pathology consensus conference on handling and staging of radical prostatectomy specimens. Vol. 18, Advances in Anatomic Pathology. 2011. p. 301–5.

39. Boccon-Gibod L, Van Der Kwast TH, Montironi R, Boccon-Gibod L, Bono A. Handling and pathology reporting of prostate biopsies. Eur Urol. 2004;46(2):177–81.

40. Kates M, Sopko N, Alan M, Partin W, Epstein J. Importance of Reporting the Gleason Score at the Positive Surgical Margin Site: Analysis of 4,082 Consecutive Radical Prostatectomy Cases. J Urol. 2016 Feb;195:337–42.

41. Galiabovitch E, Hovens C, Peters J, Costello A, Battye S, Norden S, et al. Routinely reported «equivocal» lymphovascular invasion in prostatectomy specimens is associated with adverse outcomes. BJU Int. 2017 Apr;119:567–72.

42. Amin MB. AJCC Cancer Staging Manual Eighth Edition. Springer. 2018. 1–1051 p.

43. Humphrey PA. Diagnosis of adenocarcinoma in prostate needle biopsy tissue. J Clin Pathol. 2007;60(1):35–42.

44. Arista-Nasr J, Martinez-Benitez B, Mendez-Cano V, Albores-Saavedra J. Atrophic and Microcystic Limited Prostatic Adenocarcinomas. Int J Surg Pathol. 2020;28(6):584–9.

45. Koca SB, Yildiz P, Behzatołlu K. Foamy gland carcinoma in core needle biopsies of the prostate: Clinicopathologic and immunohistochemical study of 56 cases. Ann Diagn Pathol. 2014;18(5):271–4.

46. Arista-Nasr J, Martínez-Benítez B, Aguilar-Ayala EL, Aleman-Sanchez CN, Bornstein-Quevedo L, Albores-Saavedra J. Pseudohyperplastic prostate carcinoma: Histologic patterns and differential diagnosis. Ann Diagn Pathol [Internet]. 2015;19(4):253–60. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2015.04.009

47. Yaskiv O, Cao D, Humphrey PA. Microcystic adenocarcinoma of the prostate: A variant of pseudohyperplastic and atrophic patterns. Am J Surg Pathol. 2010;34(4):556–61.

48. Osunkoya AO. Mucinous and secondary tumors of the prostate. Mod Pathol [Internet]. 2018;31(S1):80–95. Available from: http://dx.doi.org/10.1038/modpathol.2017.132

49. Lane BR, Magi-Galluzzi C, Reuther AM, Levin HS, Zhou M, Klein EA. Mucinous adenocarcinoma of the prostate does not confer poor prognosis. Urology. 2006;68(4):825–30.

50. Fujita K, Sugao H, Gotoh T, Yokomizo S, Itoh Y. Primary signet ring cell carcinoma of the prostate: Report and review of 42 cases. Int J Urol. 2004;11(3):178–81.

51. Rodrigues DN, Hazell S, Miranda S, Crespo M, Fisher C, de Bono JS, et al. Sarcomatoid carcinoma of the prostate: ERG fluorescence in-situ hybridization confirms epithelial origin. Histopathology. 2015;66(6):898–901.

52. Alharbi AM, Marzo AM De, Hicks JL, Lotan TL, Epstein JI. Prostatic Adenocarcinoma With Focal Pleomorphic Giant Cell Features. Am J Surg Pathol. 2018;42(10):1286–96.

53. Parwani A, Herawi M, Epstein J. Pleomorphic giant cell carcinoma of the prostate. Uropathology, Second Ed. 2022;30(10):83–4.

54. Hameed O, Humphrey PA. Stratified epithelium in prostatic adenocarcinoma: A mimic of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. Mod Pathol. 2006;19(7):899–906.

55. Paulk A, Giannico G, Epstein JI. PIN-like (Ductal) Adenocarcinoma of the Prostate. Am J Surg Pathol. 2018;42(12):1693–700.

56. Watts K, Li J, Magi-Galluzzi C, Zhou M. Incidence and clinicopathological characteristics of intraductal carcinoma detected in prostate biopsies: A prospective cohort study. Histopathology. 2013;63(4):574–9.

57. Guo CC, Epstein JI. Intraductal carcinoma of the prostate on needle biopsy: Histologic features and clinical significance. Mod Pathol. 2006;19(12):1528–35.

58. Miyai K, Divatia MK, Shen SS, Miles BJ, Ayala AG, Ro JY. Heterogeneous clinicopathological features of intraductal carcinoma of the prostate: A comparison between «precursor-like» and «regular type» lesions. Int J Clin Exp Pathol. 2014;7(5):2518–26.

59. Varma M, Epstein JI. Head to head: should the intraductal component of invasive prostate cancer be graded? Histopathology. 2021;78(2):231–9.

60. Seipel AH, Wiklund F, Wiklund NP, Egevad L. Histopathological features of ductal adenocarcinoma of the prostate in 1,051 radical prostatectomy specimens. Virchows Arch. 2013;462(4):429–36.

61. Seipel AH, Whitington T, Sc B, Delahunt B, Samaratunga H, Mayrhofer M, et al. Genetic Profile of Ductal Adenocarcinoma of the Prostate. Hum Pathol. 2017 Apr;69:1–7.

62. Dong B, Miao J, Wang Y, Luo W, Ji Z, Lai H, et al. Single-cell analysis supports a luminal-neuroendocrine transdifferentiation in human prostate cancer. Commun Biol. 2020;3(1).

63. Priemer DS, Montironi R, Wang L, Williamson SR, Lopez-Beltran A, Cheng L. Neuroendocrine Tumors of the Prostate: Emerging Insights from Molecular Data and Updates to the 2016 World Health Organization Classification. Endocr Pathol. 2016;27(2):123–35.

64. Spetsieris N, Boukovala M, Patsakis G, Alafis I, Efstathiou E. Neuroendocrine and aggressive-variant prostate cancer. Cancers (Basel). 2020;12(12):1–20.

65. Fine SW. Neuroendocrine tumors of the prostate. Mod Pathol. 2018;31(September 2017):122–32.

66. Osunkoya AO, Hansel DE, Sun X, Netto GJ, Epstein JI. Aberrant diffuse expression of p63 in adenocarcinoma of the prostate on needle biopsy and radical prostatectomy: Report of 21 cases. Am J Surg Pathol. 2008;32(3):461–7.

67. Giannico GA, Ross HM, Lotan T, Epstein JI. Aberrant expression of p63 in adenocarcinoma of the prostate a radical prostatectomy study. Am J Surg Pathol. 2013;37(9):1401–6.

68. Tan HL, Haffner MC, Esopi DM, Vaghasia AM, Giannico GA, Ross HM, et al. Prostate adenocarcinomas aberrantly expressing p63 are molecularly distinct from usual-type prostatic adenocarcinomas. Mod Pathol [Internet]. 2015;28(3):446–56. Available from: http://dx.doi.org/10.1038/modpathol.2014.115

69. Sung MT, Jiang Z, Montironi R, MacLennan GT, Mazzucchelli R, Cheng L. α-methylacyl-CoA racemase (P504S)/34βE12/p63 triple cocktail stain in prostatic adenocarcinoma after hormonal therapy. Hum Pathol. 2007;38(2):332–41.

70. Beach R, Gown AM, De Peralta-Venturina MN, Folpe AL, Yaziji H, Salles PG, et al. P504S immunohistochemical detection in 405 prostatic specimens including 376 18-gauge needle biopsies. Am J Surg Pathol. 2002;26(12):1588–96.

71. Wu HH, Lapkus O, Corbin M, Ascp HT. Comparison of 34BE12 and P63 in 100 Consecutive Prostate. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2004;12(4):285–9.

72. Mandel P, Wenzel M, Hoeh B, Welte MN, Preisser F, Inam T, et al. Immunohistochemistry for prostate biopsy—impact on histological prostate cancer diagnoses and clinical decision making. Curr Oncol. 2021;28(3):2123–33.

73. Molinié V, Fromont G, Sibony M, Vieillefond A, Vassiliu V, Cochand-Priollet B, et al. Diagnostic utility of a p63/α-methyl-CoA-racemase (p504s) cocktail in atypical foci in the prostate. Mod Pathol. 2004;17(10):1180–90.

74. Lindner V, Waydelich A, Chen CC, Jones C, Stratton SP. Performance comparison of anti-p504s (SP116) Rabbit Monoclonal Primary Antibody vs. Monoclonal Rabbit Anti-Human AMACR clone 13H4 when duplexed with VENTANA Basal Cell Cocktail (34βE12+p63) as a diagnostic aid for prostatic adenocarcinoma using immunohistochemistry. Virchows Arch. 2021;479(2):337–43.

75. Trpkov K. Benign mimics of prostatic adenocarcinoma. Mod Pathol [Internet]. 2018;31(S1):22–46. Available from: http://dx.doi.org/10.1038/modpathol.2017.136

76. Yang Y, Hao J, Liu X, Dalkin B, Nagle RB. Differential expression of cytokeratin mRNA and protein in normal prostate, prostatic intraepithelial neoplasia, and invasive carcinoma. Am J Pathol. 1997;150(2):693–704.

77. Chuang AY, DeMarzo AM, Veltri RW, Sharma RB, Bieberich CJ, Epstein JI. Immunohistochemical differentiation of high-grade prostate carcinoma from urothelial carcinoma. Am J Surg Pathol. 2007;31(8):1246–55.

78. Gelmann EP, Bowen C, Bubendorf L. Expression of NKX3.1 in normal and malignant tissues. Prostate. 2003;55(2):111–7.

79. Lobo J, Tenace N, Cañete-Portillo S, Carneiro I, Henrique R, Luciano R, et al. Aberrant expression of GATA3 in metastatic adenocarcinoma of the prostate: an important pitfall. Histopathology. 2024;84(3):507–14.

80. Yang C, Humphrey PA. False-negative histopathologic diagnosis of prostatic adenocarcinoma. Arch Pathol Lab Med. 2020;144(3):326–34.

81. Aggarwal R, Zhang T, Small EJ, Armstrong AJ. Neuroendocrine Prostate Cancer: Subtypes, Biology, and Clinical Outcomes NCCN: Continuing Education Accreditation Statement. J Natl Compr Cancer Netw | [Internet]. 2014;12(5):719–26. Available from: http://education.nccn.org/

82. Hu J, Han B, Huang J. Morphologic spectrum of neuroendocrine tumors of the prostate an updated review. Arch Pathol Lab Med. 2020;144(3):320–5.

83. Chen JY, Wang PY, Liu MZ, Lyu F, Ma MW, Ren XY, et al. Biomarkers for Prostate Cancer: From Diagnosis to Treatment. Diagnostics. 2023;13(21):1–15.

84. Smits M, Mehra N, Sedelaar M, Gerritsen W, Schalken JA. Molecular biomarkers to guide precision medicine in localized prostate cancer. Vol. 17, Expert Review of Molecular Diagnostics. Taylor and Francis Ltd; 2017. p. 791–804.

85. Cancer Genome Atlas Research Network. The Molecular Taxonomy of Primary Prostate Cancer. Cell. 2015 Nov;163:1011–25.

86. Guo Z, Yang X, Sun F, Jiang R, Linn D, Chen H, et al. A novel androgen receptor splice variant is up-regulated during prostate cancer progression and promotes androgen depletion-resistant growth. Cancer Res. 2009 Mar;69:2305–13.

87. Gandhi J, Afridi A, Vatsia S, Joshi G, Joshi G, Kaplan SA, et al. The molecular biology of prostate cancer: Current understanding and clinical implications. Prostate Cancer Prostatic Dis [Internet]. 2018;21(1):22–36. Available from: http://dx.doi.org/10.1038/s41391-017-0023-8

88. Lowrance W, Breau R, Chou R, Chapin B, Crispino T, Dreicer R, et al. Advanced Prostate Cancer: AUA/ASTRO/SUO Guideline PART I. J Urol. 2021 Jan;205:14–21.

89. Lowrance W, Breau R, Chou R, Chapin B, Crispino T, Dreicer R, et al. Advanced Prostate Cancer: AUA/ASTRO/SUO Guideline PART II. J Urol. 2021 Jan;205:22–9.

90. Matoso A, Epstein JI. Defining clinically significant prostate cancer on the basis of pathological findings. Histopathology. 2019;74(1):135–45.

91. Schweizer MT, Antonarakis ES, Bismar TA, Guedes LB, Cheng HH, Tretiakova MS, et al. Genomic Characterization of Prostatic Ductal Adenocarcinoma Identifies a High Prevalence of DNA Repair Gene Mutations. JCO Precis Oncol. 2019;(3):1–9.

92. Testa U, Castelli G, Pelosi E. Cellular and Molecular Mechanisms Underlying Prostate Cancer Development: Therapeutic Implications. Medicines. 2019 Jul 30;6(3):82.

93. Zhu S, Zhao J, Nie L, Yin W, Zhang Y, Zhao F, et al. Homologous recombination deficiency (HRD) score in aggressive prostatic adenocarcinoma with or without intraductal carcinoma of the prostate (IDC-P). BMC Med [Internet]. 2022;20(1):1–13. Available from: https://doi.org/10.1186/s12916-022-02430-0

94. Scott RJ, Mehta A, Macedo GS, Borisov PS, Kanesvaran R, Metnawy W El. Genetic testing for homologous recombination repair (HRR) in metastasic castration-resistant prostate cancer (mCRPC): challenges and solutions. Oncotarget. 2021;12(16):1600–14.

# Recomendaciones del Grupo de Trabajo de Técnicos Superiores en Anatomía Patológica y Citodiagnóstico de la SEAP

# Manejo de los macrobloques en el servicio de Anatomía Patológica

**María del Mar Olmo Fernández, Laura Martínez Codes, Cristina Rocío Maldonado Muñoz, María Rosario Castillo Moratilla, Paula García Díaz, Nerea Guerrero Fretes, Silvia Ribagorda García, Karen Villar Zarra**

*Hospital Universitario del Henares. Coslada. Madrid*

Los antecedentes de los macrobloques se remontan a los laboratorios de investigación donde estaba implantado el uso de micrótomos de deslizamiento en muestras incluidas en medios de inclusión diferentes a la parafina, para muestras de tejido de mayor tamaño 1-2.

La introducción de la técnica de macrobloques en el flujo diario de trabajo del laboratorio en los Servicios de Anatomía Patológica aporta numerosas ventajas, tanto en lo referido a la disminución de la carga de trabajo técnico como para la reducción de tiempo de estudio microscópico. El examen de secciones completas de especímenes quirúrgicos facilita el diagnóstico por parte del patólogo, poder estudiar secciones de tejidos mayores a las que se pueden valorar con los bloques histológicos habituales, permite una mejor orientación espacial de los mismos, en especial en lo tocante a bordes quirúrgicos y volúmenes tumorales. (www.cap.org)

Un conocimiento detallado de la naturaleza tisular de los especímenes, junto con una habilidad y experiencia destacada en el manejo de técnicas de fijación, inclusión, corte y tinción nos permitirá aprovechar al máximo las ventajas que esta técnica ofrece para cualquier tipo de muestra 3. Para la obtención de secciones histológicas de calidad tenemos que analizar los parámetros que directamente influyen en la fijación, como la composición histológica del tejido objeto de estudio o el grosor y dimensiones de las muestras a estudiar. Por ello es muy importante establecer protocolos de trabajo diferenciados adaptados a los diferentes tipos de tejidos a procesar en forma de macrobloques.

En nuestra experiencia, el uso de macrobloques resulta especialmente relevante en el estudio de órganos como próstata, mama y recto, independientemente de las patologías que presenten, que pueden variar en complejidad y naturaleza. En lugar de trabajar con numerosos bloques histológicos normales, tanto el técnico como el patólogo pueden centrarse en un número limitado de macrobloques, raramente superior a ocho, que contiene una representación completa del tejido en cuestión, disminuyendo el tiempo de inclusión, corte, tinción y evaluación histológica.4 Para el patólogo, facilita la interpretación de la muestra, ya que las macro preparaciones permiten observar una mayor extensión del tejido de forma más clara y detallada, valorando los márgenes de resección quirúrgica de forma continua. Además, al tener una representación más amplia del tejido, el patólogo puede realizar un estudio más eficiente, disminuyendo el tiempo necesario para examinar y diagnosticar la muestra.

En resumen, los macrobloques no solo optimizan el proceso técnico, sino que también mejoran la calidad del diagnóstico, reduciendo la carga de trabajo tanto para el laboratorio como para el patólogo.

En este contexto, se abordará cómo procesar los macrobloques de forma específica para cada tipo de tejido, las particularidades de su manejo y la relevancia de su análisis histológico para el diagnóstico y tratamiento de diversas enfermedades:

- Las piezas de prostatectomías radicales fueron las primeras piezas quirúrgicas en las que se utilizaron los macrobloques con intención asistencial, lo que supuso un avance importante en la reducción del número de casetes histológicos durante el tallado así como el número de laminillas que visualizar al microscopio por el patólogo.5-6 Cabe citar a modo de ejemplo, que una próstata con unas dimensiones aproximadas de 5 x 6,5 x 2,5 cm, peso de 62,8 g y volumen de 50 cc se puede incluir en su totalidad en 11 bloques basándonos en el siguiente esquema: Ápex y base derecha en 4 casetes normales respectivamente, Ápex y base izquierdo en dos casete normal, 5 Macrobloques de ápex a base. El protocolo desarrollado para la obtención de cortes de calidad en tejido prostático tiene establecida una fijación en formaldehído 37-38 % w/w durante 24 horas antes del tallado y de 24 horas tras el tallado (Tabla Anexo 1). El formaldehído 37-38 % w/w permite una fijación más rápida y homogénea en piezas sólidas. Este tipo de fijación no se puede utilizar en piezas donde exista la necesidad de realizar a posteriori estudios complementarios de inmunohistoquímica o de biología molecular. La Administración de Alimentos y Medicamentos de los EEUU (FDA) sólo ha validado este tipo de pruebas utilizando formaldehído al 4 %. El procesamiento se llevará a cabo en procesadores automáticos de tejidos siguiendo el protocolo que se puede observar en la Tabla Anexo 2.
- Para las muestras procedentes de piezas quirúrgicas de mama, en especial en los pacientes que han recibido tratamiento adyuvante, el uso de macrobloques resulta muy relevante.7-8 En este tipo de tejidos la fijación se realiza con formaldehído al 4 % durante 24-48 horas. Las piezas al tener en su composición tejido graso, una vez talladas e incluidas en macrobloques se sumergen en alcohol absoluto durante un periodo de tiempo de 24 horas antes de su procesamiento. La calidad de los cortes a 3 micras realizadas en el micrótomo Minot en muestras con un elevado componente graso, va a ser notable si impregnamos las muestras tisulares en parafina a 60ºC durante un periodo de tiempo adicional de 24 horas antes de confeccionar el bloque en los centros modulares de inclusión de tejidos. El protocolo de manejo de este tipo de piezas durante el procesamiento no impide realizar determinaciones inmunohistoquímicas ni pruebas genómicas ya que se cumplen los criterios establecidos en las guías para el tratamiento contra el cáncer de mama. A modo de ejemplo una pieza de mastectomía parcial con unas dimensiones de 7,5 x 6,5 x 2,5 cm se realizan cortes seriados con inclusión total en 7 macrobloques. (Figura 1,2,3)

**Figura1.** Tallado pieza correspondiente a tumorectomía mamaria.

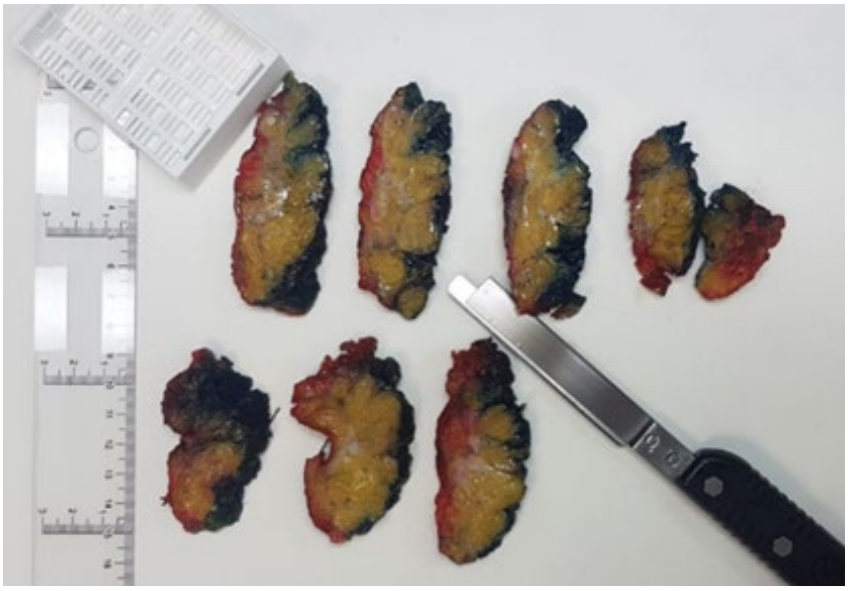
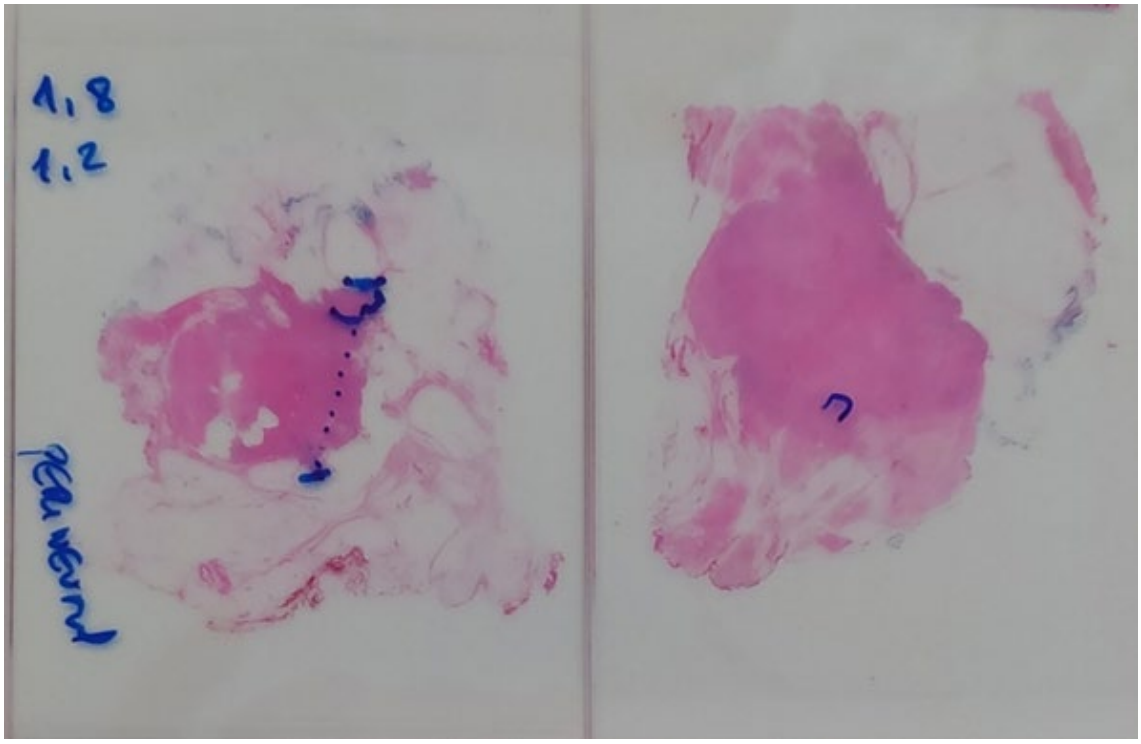


**Figura 2.** Pieza de tumorectomía mamaria: Carcinoma ductal infiltrante




- Las piezas de recto o de colon tras neoadyuvancia (Proyecto Vikingo)9 también se benefician de las ventajas que ofrece la técnica de macrobloques. La composición histológica es muy similar a las piezas de mastectomías, considerándose tejidos con notable componente graso. La fijación se va a realizar con formaldehído 37-38 % w/w durante un periodo máximo de 48 horas. Tras su tallado e inclusión en casetes, se deshidratan en alcohol absoluto durante un periodo de tiempo que puede oscilar entre 24-48 horas. El fin a conseguir con este paso junto con el protocolo de deshidratación, aclaramiento e infiltración llevado a posteriori por los procesadores automáticos, es conferirle dureza a la sección histológica. De modo rutinario y sin modificar la estructura del microscopio óptico, se podrá visualizar la circunferencia tumoral junto al mesorrecto. Permiten un mapeo exacto de todos los ganglios linfáticos presentes en el mesorrecto, además de proporcionar información detallada sobre cualquier tipo de invasión linfovascular.

**Figura 3.** Modelos de cestillos de procesador con diferentes capacidades.

La inclusión en parafina sólo requiere la utilización de moldes mayores los cuales pueden ser de plástico desechables, así como de metal (ambos modelos permiten un enfriamiento ascendente homogéneo). Los de plástico no es conveniente reutilizarlos ya que el calor puede causar deformaciones en su estructura dificultando así la obtención de bloques de parafina óptimos para su corte al micrótomo. (Figura 4) Como se puede apreciar en la figura nos podemos ayudar de un soporte o de nuestras propias manos para conseguir que la biopsia quede aplanada. (Figura 5)

**Figura 4.** Diferentes tipos de moldes.

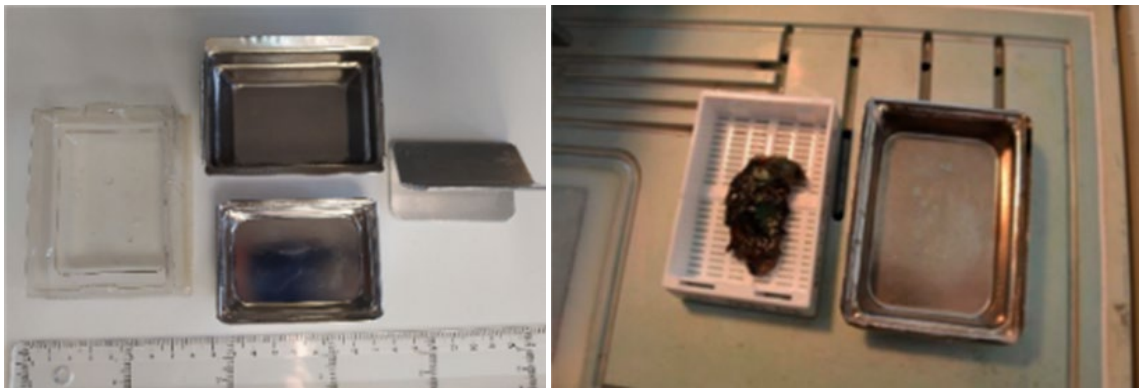
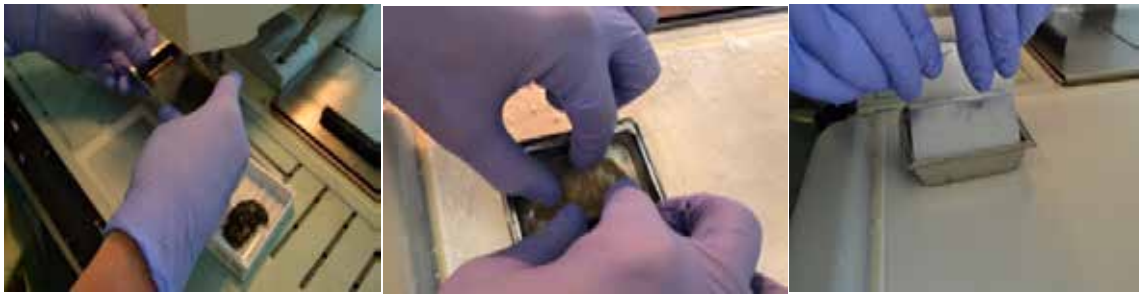


**Figura 5.** Secuencia de inclusión.



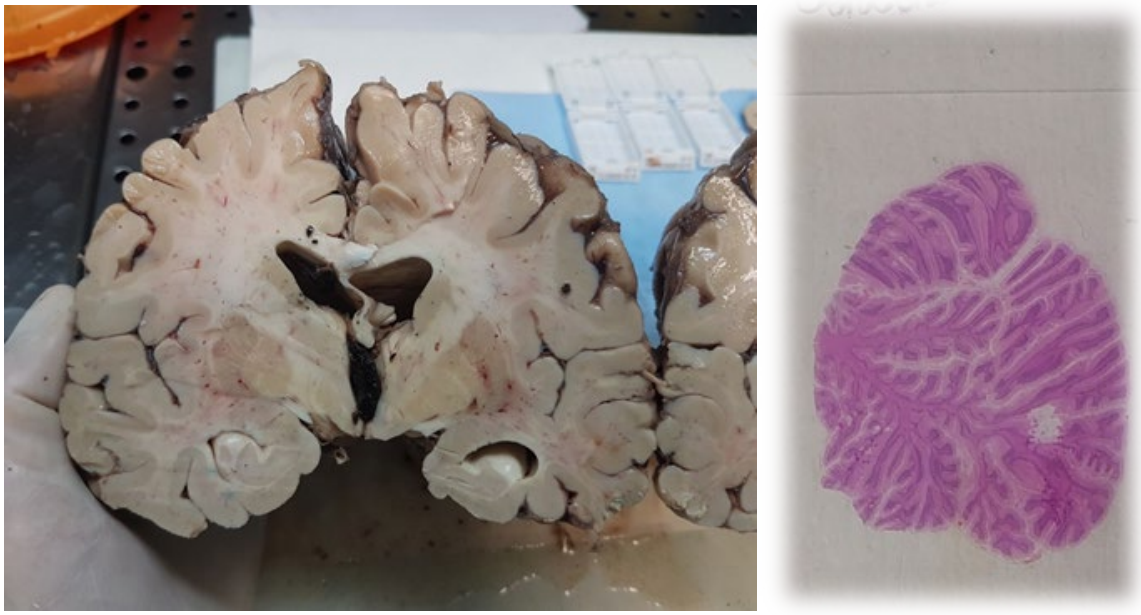
Aunque en este escrito únicamente describimos los protocolos de procesamiento tisular de las piezas quirúrgicas que más frecuentemente son procesadas como macrobloques, la utilización de los mismos tiene tantas aplicaciones posibles como tipos de piezas o biopsias quirúrgicas sean susceptibles de rentabilizar su diagnóstico microscópico apoyándose en este proceso técnico. El protocolo de procesamiento resaltado como <<Macrobloques rutina>> nos ha resultado también de gran utilidad aplicado a piezas quirúrgicas de anexectomía, histerectomía, cistectomías radicales, nefrectomías parciales o totales, fetos o huesos femorales entre otras. La técnica ofrece multitud de aplicaciones como su utilización en material procedente de necropsias. (Figura 6)

El procesamiento macroscópico de las piezas debe permitir obtener secciones de tejido con un grosor homogéneo aproximado de 5 a 7 mm. Dimensiones menores pueden provocar fragmentación de los especímenes y pérdida de las relaciones arquitecturales entre los distintos elementos, durante el proceso de deshidratación, aclaramiento e impregnación. Por el contrario, grosores mayores impedirían un buen procesado y dificultaría notablemente la obtención de cortes finos, regulares y homogéneos en el micrótomo tipo Minot. (Figura 7)

Es muy importante destacar que, los programas de los procesadores automáticos de tejido, debido al distinto tamaño y espesor mayor de los macrobloques en relación con los bloques tisulares normales, deben sufrir modificaciones relativas a tiempo de los agentes deshidratantes, aclarantes e infiltrantes

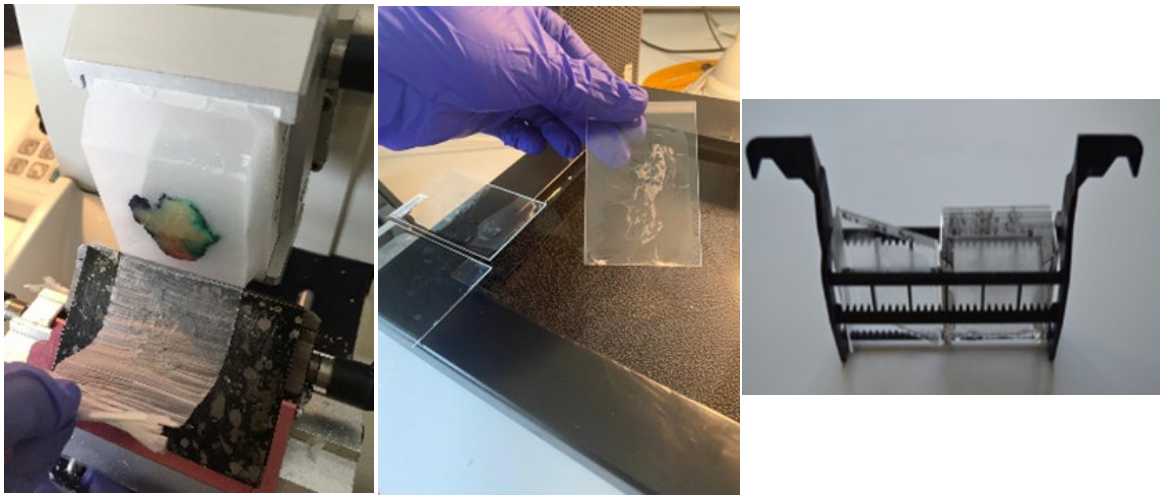
utilizados. Se deben aumentar los tiempos en cada paso del procesado. El incremento de tiempo de procesado de muestras hace inviable llevar a cabo este proceso simultaneando los casetes de macrobloques con los bloques de rutina diaria. 9.

**Figura 6.** Imagen correspondiente a cerebro humano junto con laminilla teñida con Hematoxilina-Eosina.



Una vez correctamente procesados e incluidos en parafina los macrobloques, la mayoría de los micrótomos utilizados en rutina son compatibles con estos bloques de mayor tamaño. El corte se realiza en micrótomos tipo Minot donde se adapta una pinza portabloques para macrobloques. La técnica de corte utilizada es la misma que en los bloques tisulares normales pudiéndose realizar cortes entre 3-4 micras utilizando portaobjetos adecuados al tamaño del macrobloque. La tinción con Hematoxilina-Eosina puede realizarse de modo manual o adaptando los cestillos de tinción en los teñidores automáticos. En contraposición el montaje que debe llevarse a cabo de modo totalmente manual (el tamaño del cubre objetos es de 60 x 50 mm).

**Figura 7.** Corte con adaptador en micrótomo Minot, recogida en baño de flotación y cestillo para tinción automatizada



Las técnicas histoquímicas y de inmunohistoquímica se podrán realizar seleccionando la zona objeto de estudio y adaptándola a los portaobjetos utilizados para las técnicas de inmunohistoquímica. No existe ningún inconveniente en el uso de pruebas de biología molecular sobre tejidos procesados con este tipo de bloques.

Una vez realizados los cortes y para evitar la retracción del tejido es aconsejable recubrir cada macrobloque con una fina capa de parafina antes de guardarlos en archivadores de bloques y portaobjetos especialmente diseñados para ello que se encuentran disponibles comercialmente (Figura 8)

**Figura 8.** Bloque de parafina protegido la superficie de corte con una capa de parafina anterior a su archivo

Entre las ventajas adicionales de los macrobloques está la capacidad de adaptación a las nuevas tecnologías que están ganando relevancia en los Servicios de Anatomía, como la trazabilidad y la Patología Digital, gracias a la progresiva aparición de equipos de escaneado compatibles con este formato de bloques.

## CONCLUSIÓN

La individualización de los protocolos de procesamiento tisular en función de la composición de las piezas objeto de estudio, así como un conocimiento exhaustivo por parte del personal técnico de los procedimientos aplicados en los servicios de Anatomía, resulta esencial para poder utilizar los macrobloques de manera rutinaria en todas aquellas piezas quirúrgicas que aporten rentabilidad referenciada a tiempo técnico y tiempo diagnóstico. (Figura 9)

**Figura 9.** Macrobloques de parafina con diferentes tipos de tejidos.

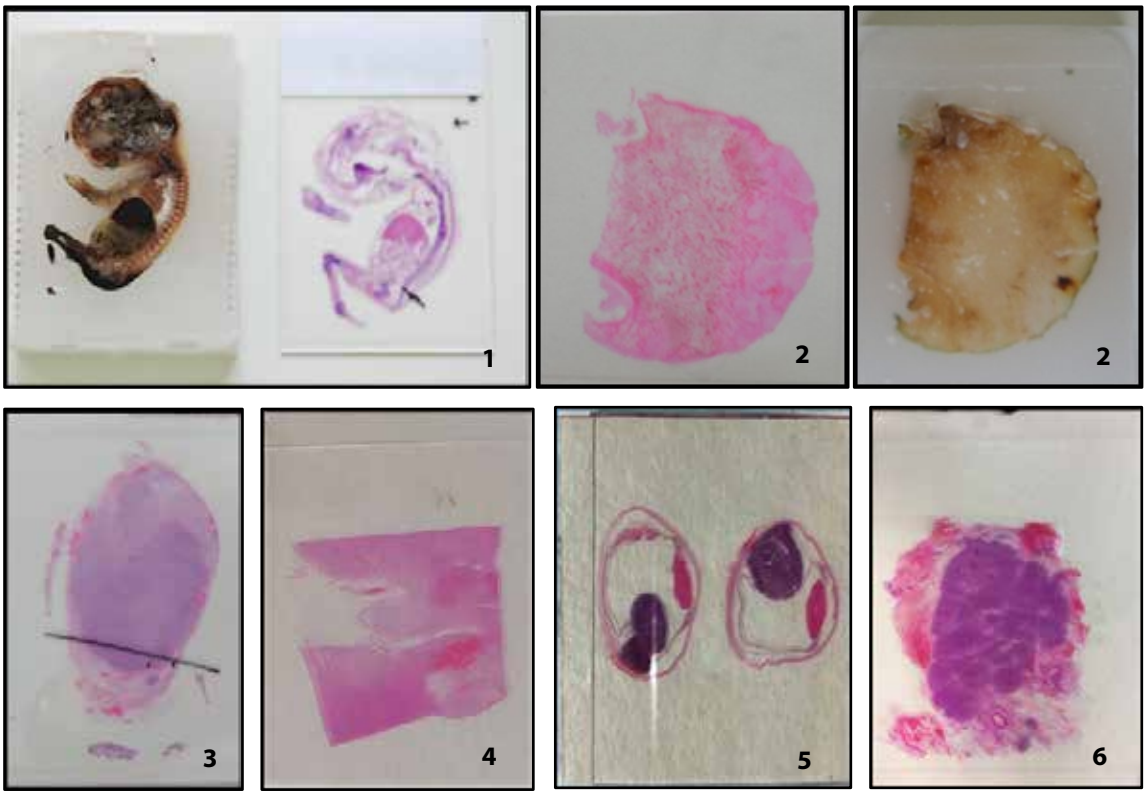
**Tabla Anexo 1.** Protocolo de tratamiento de los tejidos antes de ser introducidos en el procesador de tejidos.

| TEJIDO | MAMA | PRÓSTATA | RECTO | HUESO | RESTO TEJIDOS |
|---|---|---|---|---|---|
| FIJACIÓN | Formaldehído 4 % | Formaldehído 37-38 % w/w | Formaldehído 37-38 % w/w | Formaldehído 4 % Decalcificación | Formaldehído 4 % |
| TIEMPO | 24-48 horas | 24 horas | 24 horas | 24-48 horas | 24-48 horas |
| PRETRATAMIENTO ANTES DE PROCESAMIENTO | 24-48 horas Alcohol absoluto | 24 horas Formaldehído 37-38 % w/w | 24-48 horas Alcohol Absoluto | | |

**Tabla Anexo 2.** Protocolo de procesamiento automático según pieza quirúrgica.

| PROTOCOLO PROCESADORES AUTOMÁTICOS | PIEZAS DE MASTECTOMÍAS COLON | PIEZA DE PROSTATECTOMÍA | RESTOS DE MUESTRAS RUTINA |
|---|---|---|---|
| FORMALDEHÍDO | | | 1 HORA 30 MINUTOS |
| ALCOHOL 70º | | | 1 HORA 30 MINUTOS |
| ALCOHOL 70º | | | 1 HORA 30 MINUTOS |
| ALCOHOL 96º | | 2 HORAS | 1 HORA 30 MINUTOS |
| ALCOHOL 96º | | 2 HORAS | 1 HORA 30 MINUTOS |
| ALCOHOL 100º | 4 HORAS | 2 HORAS | 1 HORA 30 MINUTOS |
| ALCOHOL 100º | 4 HORAS | 2 HORAS | 1 HORA 30 MINUTOS |
| XILOL | 2 HORAS | 2 HORAS | 1 HORA 30 MINUTOS |
| XILOL | 2 HORAS | 2 HORAS | 1 HORA 30 MINUTOS |
| XILOL | 2 HORAS | 2 HORAS | 1 HORA 30 MINUTOS |
| PARAFINA | 2 HORAS | 2 HORAS | 1 HORA 30 MINUTOS |
| PARAFINA | 2 HORAS | 2 HORAS | 1 HORA 30 MINUTOS |

**Figura Anexo 3.** Galería de imágenes




1. Macrobloque correspondiente a feto junto con portaobjeto teñido con Hematoxilina-Eosina.
2. Macrobloque correspondiente a cabeza femoral junto con la tinción de Hematoxilina-Eosina.
3. Corte histológico de sección correspondiente a pieza de orquiectomía.
4. Corte histológico de sección correspondiente a pieza de nefrectomía.
5. Corte histológico de sección correspondiente a pieza de globo ocular.
6. Corte histológico de sección correspondiente a pieza de páncreas.

**Bibliografía**


1. Culling CFA. Handbook of histopathological and histochemical techniques (3rd edn., Ch 5, pp 101-109; Ch 28, 554–556). London (UK): Butterworth and Company Ltd.; 1974
2. García del Moral, R. (1993). Laboratorio de anatomía patológica. Editorial McGraw-Hill. Madrid.
3. Geneser, F. (1985). Atlas color de histología.
4. Bryant, P., Haine, N., Johnston, J., & Ntiamoah, P. (2019). Application of large format tissue processing in the histology laboratory. Journal of Histotechnology, 42(3), 150-162.
5. Parralejo, L. B., Alonso, R. B., & Dorado, N. G. LA IMPORTANCIA DEL USO DE MACROBLOQUES EN EL ESTUDIO DE LAS PROSTATECTOMÍAS RADICALES.
6. Yossepowitch, O., Bjartell, A., Eastham, J. A., Graefen, M., Guillonneau, B. D., Karakiewicz, P. I.,… & Montorsi, F. (2009). Positive surgical margins in radical prostatectomy: outlining the problem and its long-term consequences. European urology, 55(1), 87-99.
7. Bernet, L., & Fernández, M. A. M. (2021). Los márgenes. Revista de Senología y Patología Mamaria, 34, S25-S29.
8. Burgués, O., López-García, M. Á., Pérez-Míes, B., Santiago, P., Vieites, B., García, J. F., & Peg, V. (2018). The ever-evolving role of pathologists in the management of breast cancer with neoadjuvant treatment: recommendations based on the Spanish clinical experience. Clinical and Translational Oncology, 20, 382-391.
9. Ortiz, H. (2009). Informe sobre el análisis de resultados y propuestas de mejora del proyecto: «Equipos seguros en la cirugía del cáncer de recto en España». Madrid: Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad Centro de Publicaciones.
10. http://www.conganat.org/10congreso/trabajo.asp?id_trabajo=1632&tipo=4

# Recomendaciones del Grupo de Trabajo de Tutores MIR de Anatomía Patológica de la SEAP

# Tutor de residentes de anatomía patológica: La columna vertebral de la Formación Sanitaria Especializada

**Rosa A. Barbella Aponte[1], Rosa María Ríos Pelegrina[2], María del Carmen Gómez Mateo[3]**

1. *Hospital General de Albacete*
2. *Hospital Universitario San Cecilio, Unidad Provincial de Anatomía Patológica de Granada*
3. *Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza*

El tutor de residentes es un profesional multifacético que determina en gran medida el desarrollo y progreso no solo de un residente sino del funcionamiento de un servicio. La mayoría de las veces con alta capacidad de resilinecia, nadando en las aguas turbulentas entre los residentes y los especialistas durante el proceso formativo del MIR. Este capítulo está orientado a brindar alternativas formativas y a evidenciar una vez más en qué posición están actualmente estos profesionales.

## INTRODUCCIÓN

Hablar del tutor de residentes en la formación sanitaria especializada (FSE) hace referencia a la o las figuras docentes que tienen diferentes actividades de tipo formativo, incluyendo en este grupo, aquellos que son colaboradores docentes (especialistas que no tienen acreditación como tutor) y sin embargo ejercen funciones, en otros casos tenemos especialistas que ejercen la acción de tutor con todos las responsabilidades porque reciben rotantes en sus hospitales, pero al no existir una unidad docente permanecen en el limbo formativo-legislativo.

Legalmente se define como tutor ««…el especialista en servicio activo que,estando acreditado como tal, tiene la misión de planificar y colaborar activamente en el aprendizaje del residente, para la adquisición de las competencias, según el programa de la especialidad de que se trate.» (Artículo (Art.) 11 del RD 183/2008), así mismo como elemento fundamental las funciones de tutoría según la normativa nacional en relación con el tutor, éste tiene funciones de gestión clínica en las organizaciones sanitarias (Art. 10 de la LOPS); ambos puntos los hemos comentado y ampliado en las ediciones anteriores de este libro, por lo que invitamos al lector a revisarlos, sin embargo sí queremos hacer hincapié que por estar legislado el sistema, debe capacitar al tutor de los medios para el acceso a dichas funciones y entre las cuales deberían existir sistemas de reconocimiento e incentivos[1].

En esta edición del libro blanco queremos contribuir al desarrollo y desempeño de los tutores, proporcionarles algunas pautas y mejoras que pudiesen ser aplicadas en su trabajo diario, así mismo estimular al grupo de tutores a la formación de equipo para solicitar a las autoridades pertinentes el reconocimiento real de nuestra labor. El enfoque de este capítulo es un poco más de gestión que formativo. Haremos en tres apartados los puntos que hemos considerado necesarios para este capítulo.

## EL TUTOR DE ANATOMÍA PATOLÓGICA: CARACTERÍSTICAS Y FUNCIONES

Según la Ley de Ordenación de Profesiones Sanitarias (LOPS) todos los profesionales tienen encomendada la docencia entre sus funciones, pero sabemos que la labor del tutor va mucho más allá e implica una mayor carga de trabajo. Las generalidades de la función del tutor implican: la planificación, la gestión, la supervisión y la evaluación de todo el proceso formativo de los especialistas en programas de FSE (art. 11. RD 183/2008)[2], en general las funciones se replican de la normativa nacional, pero existen funciones adicionales que son incorporadas por las diferentes CCAA. Hemos decidido incorporar unas tablas del artículo publicado en educación médica, por Vicent-García MD, donde están ilustradas las funciones comunes del tutor (FSE) (RD 183/2008) y otras funciones incorporadas por las CCAA[3].

**Tabla 1.** Funciones comunes del tutor FSE (Fuente artículo de Vicent-García, MD-Rev. Educación Médica).

| |
|---|
| Proponer la guía o itinerario formativo tipo de la unidad docente, para la aprobación por parte de la comisión de docencia (CD), con sujeción a las previsiones del correspondiente programa oficial de la especialidad. |
| Adaptar la guía o itinerario formativo tipo para la elaboración del plan individual de formación de cada residente, en coordinación con los responsables de los dispositivos asistenciales y otros tutores que colaboren en la formación de los residentes. |
| Proponer las rotaciones externas a la CD con especificación de los objetivos que se pretenden. |
| Favorecer la capacidad investigadora del residente. |
| Mantener entrevistas periódicas con el residente, de carácter estructurado y pactado (al menos 4 al año), que favorezcan la autoevaluación y el autoaprendizaje del especialista en formación y que permitan valorar el progreso en la adquisición de competencias, los déficits existentes y la incorporación de propuestas de mejora. |
| Impartir instrucciones específicas sobre el grado de responsabilidad de los residentes a su cargo, tanto al residente en formación como a los especialistas que presten servicios en el centro o unidad, según las características de la especialidad y el proceso individual de adquisición de competencias, con el fin de favorecer la progresividad de una supervisión decreciente a partir del segundo año. |
| Cumplimentar los informes normalizados de la evaluación formativa, de la que es responsable, en función de las entrevistas periódicas con los residentes, el libro del residente y otros instrumentos para la valoración objetiva del progreso competencial, e incorporar dichos informes al expediente personal de cada especialista en formación. |
| Elaborar el informe de evaluación anual para la valoración del progreso anual del residente en el proceso de adquisición de competencias profesionales, tanto asistenciales como de investigación y docencia. |
| Ayudar y supervisar la cumplimentación del libro del residente, donde se registrarán las entrevistas a los residentes y los informes de evaluación formativa. |
| Facilitar el autoaprendizaje del residente mediante la reflexión individual y conjunta entre ambos, basada en el libro del residente, a fin de mejorar sus actividades. |
| Mantener entrevistas periódicas con otros tutores y profesionales que intervengan en la formación del residente, con los que analizará el proceso continuado de aprendizaje y los correspondientes informes de evaluación formativa, que incluirán los de las rotaciones realizadas. |
| Participar en los comités de evaluación de los residentes a su cargo. |
| Acompañar al residente en el proceso de revisión de las evaluaciones anuales negativas no recuperables, en su caso. |

**Tabla 2.** Otras funciones del tutor reguladas por las CCAA.

| |
|---|
| Recibir al residente en su incorporación e informarle de la organización del centro/UD mediante un programa de acogida. |
| Identificar las necesidades y objetivos de aprendizaje. |
| Servir como referente e interlocutor resolviendo las incidencias que puedan surgir entre el residente y la organización, velando por los intereses docentes del residente |
| Informar al centro sobre todas las actividades que requieren permisos y que ayudan a completar la formación del residente. |
| Asesorar, colaborar, participar en actividades no asistenciales del centro en relación con la docencia del residente (sesiones clínicas, actividades de formación en competencias transversales…) |
| Fomentar la capacidad docente e investigadora y supervisar los trabajos de investigación. |
| Organizar, coordinar, dirigir y controlar el desarrollo del programa docente de los residentes a su cargo. |
| Colaborar en la elaboración y seguimiento del Plan de gestión de la calidad docente, proponiendo actividades de mejora. |
| Asesorar a la comisión de docencia en materias relacionadas con el programa de especialidad. |
| Participar en actividades de formación continuada para garantizar su actualización de competencias. |
| Cualquier otra función que se le asigne en relación con la planificación, gestión, supervisión y evaluación del proceso de aprendizaje del residente. |

Fuente: Vicent-García, MD. El tutor de formación sanitaria especializada en España (parte II).

Siendo objetivos, viendo la diversidad y volumen de actividades administrativas que tiene el tutor debemos considerar que su carga laboral sobrepasa con creces las actividades de otras personas del equipo de patólogos. Esta sobrecarga en las funciones hace que el tutor en muchas ocasiones, se sienta abandonado y desmotivado por lo que se pone en riesgo la capacidad y calidad de la docencia y por consiguiente la asistencia y calidad sanitaria.

Para entender un poco las características actuales de los tutores de anatomía patológica, se realizó una encuesta en noviembre del 2024 al grupo de tutores de la SEAP, obteniéndose la respuesta de 22 tutores de 54 que están registrados. A pesar de la limitada participación, los resultados obtenidos nos dan una idea de cómo se están desarrollando las funciones de nuestros tutores. Plasmaremos en este capítulo la información que consideramos más relevante. Dentro de las preguntas, hemos medido el número de tutores por hospital, número de residentes, tiempo de tutoría, número de colaboradores docentes, tiempo liberado para actividades relacionadas con la tutoría, formación recibida, carga laboral, docencia en formación de pregrado, remuneración de la actividad docente, recepción de rotantes externos y uso de las herramientas de evaluación del residente.

Del grupo de encuestados, el 45 % de las unidades docentes (UD) tienen 2 tutores, siendo el máximo de tutores 5 y el mínimo 1. En cuanto a la cantidad de residentes por UD, el 41,2 % tiene 4 residentes con grupos máximos de 9 residentes y mínimo de 2. El 45,5 % de los tutores tienen entre 1-3años de experiencia y la misma cantidad, más de 6 años de tutoría. Las UD tienen una variabilidad importante en la cantidad de adjuntos, 3 centros tienen entre 10 y 12 adjuntos, 3 centros con 17 adjuntos y el máximo con 24 adjuntos. Otros datos que nos resultaron interesantes fue conocer sobre los adjuntos y tutores que están especializados por áreas, y si tienen actividad docente en las universidades, y los resultados mostraron lo siguiente: el 81 % de los encuestados afirmaron estar especializados, más del 80 % de los tutores tienen más de 2 áreas diagnósticas y el 54,5 % tienen más de 2 residentes tutorizados.

En otro aspecto, más del 54 % de los tutores tienen actividad docente en pregrado, y en el 68 % de los centros algunos especialistas también tienen actividad de pregrado. En relación al funcionamiento, el 84,2 % afirma que no dispone de tiempo libre para las actividades de tutoría y 50 % refiere que no

recibe apoyo del resto del staff docente. En cuanto al proceso formativo de tutor, la mayoría afirma haber recibido cursos formativos para tutores, pero también creen que necesitan más formación. Solo el 18,2 % (4) de los tutores encuestados, recibe remuneración económica por su labor. Casi el 90 % reciben residentes para rotaciones externas de diferentes áreas, entre ellas dermatología, hematología, oncología, análisis clínicos, nefrología, ginecología, y neurocirugía.

Como punto adicional, se preguntó sobre la valoración del residente y el uso de herramientas alternativas a las habituales (portafolio, evaluación 360º, y exámenes) y sorprendentemente más del 35 % ha utilizado algunas de estas herramientas. El motivo más frecuente es intentar optimizar la evaluación y hacerla más objetiva. Con estos resultados tenemos un panorama bastante claro de la carga asistencial de nuestros tutores.

Uno de los puntos álgidos en cuanto a la tutoría, es la desigualdad patente que existe con respecto a la compensación económica. Al igual que gran porcentaje de tutores de diferentes especialidades, solo algunas CCAA tiene establecido la compensación económica de los tutores. En el año 2024 se publicó un acuerdo de la Comisión de recursos humanos del Sistema Nacional de Salud, para establecer criterios generales de incentivación de la función tutorial en las Unidades Docentes Multiprofesionales de Atención Familiar y Comunitaria pero que podrá hacerse extensivo a la incentivación tutorial de otras especialidades de Ciencias de la Salud, si así lo considera pertinente la correspondiente comunidad autónoma[4].

Los criterios de incentivo para tutores establecidos son los siguientes:

- Reconocimiento en la carrera profesional de, al menos, un 10 % sobre la puntuación total para el incremento de nivel de carrera profesional si se ha ejercido como tutor de, al menos, dos residentes en los cuatro años previos.
- Incentivo económico individual, retribuido mensual o anualmente, a propuesta del órgano directivo de la entidad titular de la unidad docente, en función del número de residentes tutorizados.
- Reconocimiento en los procesos de selección y provisión de puestos de trabajo de, al menos, el 5 % del total del baremo por ejercicio de la función de tutorial efectiva por residente en los cuatro años previos.
- Reserva de plazas específicas para los y las profesionales acreditados/as para la docencia en formación sanitaria especializada en los procesos de movilidad de puestos de trabajo.
- Reserva de tiempo para la dedicación a la función tutorial: mínimo tres horas mensuales por residente.
- Prioridad de acceso a actividades formativas, de la especialidad o relacionadas con la función tutorial.
- Prioridad de acceso a actividades de investigación, de la especialidad o relacionadas con la función tutorial.
- Facilitar la participación en estancias o actividades formativas para tutores/as en ejercicio activo de, al menos, cinco días laborables de duración, con una periodicidad mínima de cuatro años.

Está claro que estos reconocimientos deberían ser aplicados a todas las especialidades, aunque tengan «pocos» tutorizados. Probablemente la presión se deba ejercer mediante la vía legal para homogeneizar la aplicación de estos criterios.

**Formación continuada específica del tutor**

Es más que conocido que el perfil del tutor debe estar adecuado al perfil profesional que está diseñado para la especialidad, además de estar acreditado y periódicamente reacreditado en el mantenimiento de las competencias (art. 10. LOPS), es por ello que se establece que las administraciones sanitarias deben favorecer la formación continuada (FC) del tutor, a fin de mejorar su competencia en la práctica clínica y también en metodologías docentes (art. 12. RD 183/2008)[3].

Dentro de las competencias esenciales de los tutores están: las técnicas de comunicación, la metodología de investigación, la gestión de la calidad, los aspectos éticos de la profesión y otros aspectos relacionados con los contenidos del programa formativo. Lo ideal sería que los tutores dispusieran de tiempo para la FC, pero hemos visto en nuestro grupo que más del 80 % de los tutores que respondieron la encuesta, afirma no tener tiempo disponible, liberación del trabajo y el 50 % siente que no tiene apoyo del resto del staff; unos resultados similares se obtuvieron en el estudio sobre la Formación Sanitaria Especializada de AREDA-2015[4], señalaban que más del 50 % de los tutores tenían poca o ninguna facilidad para formarse.

En relación a la formación, en el año 2015, en el marco del RD 639/2015, el Ministerio de Sanidad trabajó en el desarrollo de un diploma de acreditación para el tutor de la FSE, en teoría como referencia de estrategia de formación de tutores en colaboración con las CCAA; el documento presentado, expone las 51 competencias que debería cumplir un tutor[5], cabe destacar que este proyecto ha quedado en el aire, y es obvio que la cantidad de competencias a cumplir según este proyecto sin ningún tipo de retribución económica ni de tiempo sale de todo sentido común y tiene más ítems que el que propone la Federación de Asociaciones Científico Médicas de España (FACME)[6] para la recertificación de los profesionales médicos.

En el I Foro Nacional de Jefes de Estudios en el marco del II Congreso de la Formación Sanitaria Especializada (SEFSE-AREDA 2017, Madrid 28-29 de septiembre)[7] se planteó que el desarrollo del proyecto del Diploma de Acreditación podría resolver en cierta medida tener unos criterios homogéneos para la acreditación del tutor, ya que este diploma establece formación continuada en los 5 últimos años en las competencias tutoriales definidas, además de otras evidencias que pueda determinar cada comunidad autónoma (estancias formativas, docencia, tutorías, ponencias, tesis o proyectos de investigación). Uno de los grandes hándicaps de este DA es saber en el fondo para qué va a servir en realidad, aparte de suponer una gran carga administrativa.

Así mismo, la Comisión de RRHH del Sistema Nacional de Salud [SNS] podrá establecer que sea mérito profesional en los sistemas de provisión de plazas[8]. En lo referente al reconocimiento de tutores, las medidas incluidas en la normativa para el reconocimiento de la tutoría incluyen:

Valoración en los baremos para la selección/provisión de plazas y concursos de traslado, preferencia en actividades de formación continuada, días adicionales de formación continuada, tiempo de dedicación a la tutoría, incentivo económico, efectos en los contratos de gestión clínica, otros (participación en el sistema de gobierno de la unidad asistencial…)

Cada CCAA incluye medidas de reconocimiento propias, una de las medidas está relacionada con las actividades formativas, siete establecen que de sebe dar la prioridad a los tutores en el acceso a las actividades de formación continuada (FC)[9] pero todos sabemos que esto no se cumple.

Desde nuestra perspectiva, si bien es cierto que el tutor debe tener un proceso de formación continuada como cualquier otro profesional de la medicina, estos criterios tan rígidos sin aportarle los medios ni los espacios iría en detrimento de la calidad docente del tutor y peor aún, estimularía la renuncia al cargo en el corto plazo y la dificultad de la incorporación de otros profesionales a los que les interese el puesto.

En el VIII Congreso Nacional de la SEFSE-ARADA 2024 realizado en Pamplona, se presentaron varios posters sobre la situación de los tutores, no se ha encontrado nada diferente en los últimos años en cuanto a la FC, tiempo para formación, tiempo para tutorías, formación específica para tutor etc; y una conclusión llamativa es que la mayoría de los tutores encuestados desconocen las pruebas específicas de evaluación de residentes, es decir otros métodos de evaluación[10], resultados similares a los encontrados en nuestra encuesta. Quiere decir esto que no hemos avanzado nada en mejorar las condiciones de los tutores, al menos en los últimos 5 años. Estamos de acuerdo todos en que no es posible para el tutor cumplir con todas las competencias, cada vez más exigentes, si no existe de alguna manera redistribución y descarga del trabajo asistencial, si no hay apoyo del resto del equipo diagnóstico y menos si es el único tutor.

## USO DE HERRAMIENTAS DE EVALUACIÓN COMO MECANISMO DE DESCARGA Y EL VALOR DEL TUTOR COMO ENTE FUNDAMENTAL DE MEJORA CONTINUA.

En este apartado, queremos referirnos a las diferentes herramientas establecidas para la evaluación del residente y que están subutilizadas por la mayoría de los tutores en la FSE. En la edición anterior del Libro Blanco 2023, hemos hecho una explicación muy ampliada e interesante de las diferentes fórmulas de evaluación, por lo que invitamos a todos a repasar este capítulo tan ampliamente desarrollado. Sin embargo, sería interesante puntualizar algunos enfoques.

Cuando se habla de «competencias», hablamos de las cualidades y capacidades de una persona que se desarrollan y que están condicionadas por la experiencia de su actividad en un determinado ámbito social. Pero competencia también se refiere a pericia, aptitud o idoneidad para hacer algo y a la contienda entre dos grupos rivales[11]. Por lo tanto, la labor de la FSE es crear profesionales competentes y competitivos, es decir, un profesional capaz de competir con otros para demostrar su validez; pero la creación o formación de estas habilidades en el residente no pueden ser recargadas exclusivamente al tutor, porque las unidades docentes están formadas por varios profesionales que se encargan de esta formación.

¿Como puede el tutor utilizar mejor las herramientas para distribuir la responsabilidad de la formación y mejorar en realidad las competencias del MIR? Utilizando otras herramientas de evaluación que permitan ser más objetivos en el momento de evaluar, al mismo tiempo distribuir la responsabilidad de la formación. En la SEFSE-ARADA 2024, se presentó una comunicación oral con el diseño de una rúbrica, utilizando como guía los 11 criterios del Informe del Ministerio, los seis niveles de desempeño y la justificación de este trabajo es las dificultades para la evaluación de residentes rotantes, este grupo considera que la propuesta que ofrece el Ministerio es demasiado abierta, y que al ser varios evaluadores la homogeneidad de la evaluación se pierde[12], las conclusiones de este trabajo destacan que el uso de una rúbrica facilita la evaluación formativa de los residentes orientando su proceso de aprendizaje, ayuda a que los evaluadores otorguen una nota final al residente acorde con el nivel de desempeño que puede ser trasladada al Informe del Ministerio y además tiene un impacto educativo alto en la formación del residente. Si bien es cierto que esta herramienta no la hemos creado, pero si podemos utilizar otras que permitan la descarga del tutor.

De las herramientas más útiles que podemos considerar, creemos que son la evaluación 360º y los exámenes. Nos interesa desarrollar el primer caso, ya que todos sabemos cómo utilizar los exámenes como método de evaluación. Recordemos que es una forma ventajosa de involucrar a todo el servicio, que este método se trata de una técnica de desarrollo general y se basa principalmente en las relaciones que tiene el profesional con el resto del equipo. La metodología propuesta para su aplicación comprende la elaboración de un cuestionario con las competencias observables definidas y el análisis de los informes para dar retroalimentación al residente. Hay que garantizar que el personal que emite el juicio evaluativo pueda confiar en que sus aportes son totalmente confidenciales. Los encuestados deberían ser como mínimo 6 sujetos de distinta categoría que hayan estado relacionados con el trabajo del evaluado en el período analizado. El tutor tiene la responsabilidad de sostener una entrevista con el residente evaluado, a fin de comunicarle cuáles han sido las apreciaciones registradas[13]

Este tipo de evaluaciones es ***muy útil para medir las competencias del residente*** o en gestión del trabajador y no solamente de su rendimiento, es importante recalcar que la contratación del residente tiene una parte laboral y una parte formativa y que la función del residente influye de manera intensa en la productividad de un servicio de anatomía patológica. Utilizando información del uso de esta metodología en empresas, algunas de las competencias que se muestran, en los siguientes ejemplos, se refiere al empleado en una empresa pero que pueden ser perfectamente adaptables en la valoración MIR[14]:

Competencias[14]

- *Trabajo en equipo.* La evaluación 360° permite conocer de qué forma el empleado participa en las reuniones (en nuestro caso, comités de tumores, reuniones de servicios, etc) cómo trabaja con sus compañeros y si acepta los comentarios y sugerencias que recibe de los demás miembros del equipo (feedback con TEAPs, celadores, resolución de problemas de tallado, solicitud de técnicas, entre otros).
- *Organización.* Es posible evaluar cómo el empleado se organiza, si cumple con todas sus responsabilidades y si cumple las fechas de entrega (evaluación y revisión con el docente responsable, tallado, temas de interés en las sesiones)
- *Creatividad.* Este sistema también permite evaluar la creatividad que el empleado muestra en el momento de proponer soluciones, y si este hace propuestas innovadoras.
- *Liderazgo.* Es posible observar cómo actúa el empleado en relación con la toma de decisiones, la dirección de equipos, la delegación de tareas y la motivación de otros trabajadores de su equipo.
- *Comunicación.* Cuando hablamos de comunicación, no nos referimos únicamente a la capacidad de expresar claramente sus ideas de forma oral o escrita, También a su capacidad de escuchar a los demás miembros del equipo.

Otros aspectos personales y emocionales, como la seguridad que el empleado tiene en sí mismo y en su trabajo, la empatía que muestra hacia sus compañeros, o el conocimiento que tiene de su misión en la empresa, entre otros.

Dentro de las preguntas que podemos utilizar para estructurar la herramienta, obviamente teniendo siempre en cuenta las habilidades y competencias que debería tener la persona, en este caso el residente. Las preguntas deben estar dirigidas para definir o identificar los puntos fuertes y débiles del residente, y aquí tenemos algunos ejemplos:

- ¿Esta persona se muestra dispuesta a ayudar a sus compañeros y a proporcionar consejos?
- ¿Acepta las críticas y aplica los consejos de los demás en su manera de trabajar?
- ¿Soluciona los conflictos de forma adecuada?
- ¿Propone ideas creativas y de valor?
- ¿Se comunica de forma clara y eficaz?
- ¿Muestra iniciativa y participa activamente en las reuniones?
- ¿Sabe actuar de manera adecuada ante situaciones de estrés o conflictivas?
- ¿Motiva a los demás miembros del equipo?
- ¿Muestra una actitud receptiva frente a las opiniones de los demás?
- ¿Trabaja de forma ordenada?
- ¿Sabe escuchar?
- ¿Su trabajo contribuye a que la empresa alcance sus objetivos?
- ¿Trata a los demás miembros del equipo con respeto?
- ¿Muestra seguridad en su trabajo?
- ¿Cumple con los plazos de entrega?

Este tipo de valoración tiene ventajas, beneficios y desventajas que pondremos en foco al momento de usarla:

Ventajas14 para el Servicio:

- La información obtenida es integral, detallada y fiable, ya que proviene de diferentes personas. Además, permite observar cómo la persona evaluada trabaja en diferentes situaciones y contextos.
- Debido al hecho de que la evaluación es realizada por varias personas diferentes, con funciones y cargos distintos, la evaluación 360° proporciona una mayor objetividad frente a otros sistemas.
- Permite identificar posibles problemas en las diferentes áreas del servicio, así como maneras de solucionarlos.
- Fomenta la comunicación interna.

Ventajas para el residente

- Contribuye a mejorar el trabajo en equipo y ***la colaboración*** entre todo el personal.
- Aumenta ***la motivación***, puesto que el servicio no solamente se preocupa por los resultados que ofrece su trabajo, sino también por su crecimiento profesional.
- La información recopilada permite a los empleados conocer con mayor detalle sus ***fortalezas y sus debilidades***. Esto les permite reflexionar acerca de su desempeño, e identificar en qué aspectos deben trabajar para crecer a nivel profesional.

Desventajas:

- Es ***más complejo*** que otros modelos y el proceso de obtener la información puede resultar más lento.
- Puede ser difícil de organizar o gestionar, debido a que se trata de un sistema muy completo y que requiere la colaboración de muchas personas.
- Si no se gestiona de forma adecuada, puede generar ciertos conflictos o tensiones entre diferentes personas del servicio.
- Puede ser complicado analizar los resultados.

La planificación de un adecuado uso de la herramienta podría llevar un tiempo, pero creemos que a la larga sería muy beneficioso. Para introducir este tipo de evaluación, hay que prepararla determinando las competencias a evaluar, se debe comunicar al equipo, estructurar los cuestionarios y recalcar que la evaluación se hace de forma anónima y confidencial, obtenidos los resultados nos percataremos de los puntos fuertes y débiles y las necesidades de reforzamiento, se debe hacer una reunión de retroalimentación para que el residente sepa sus resultados y visualice los progresos y debilidades. A partir de aquí, como forma de mejora continua se podrán hacer planes formativos individuales más orientados a ***la adquisición de nuevas competencias y habilidades*** que le harán mejorar sus debilidades.

Estos métodos donde se involucra directamente a todo el personal en la evaluación del residente, permitirían probablemente al tutor disminuir su responsabilidad casi exclusiva en la formación del residente, disponer de tiempo para su propia formación y además compartir la experiencia de los resultados con otros tutores. Además, admite ir incorporando la cultura de excelencia y liderazgo en los servicios de anatomía patológica, a crear el conjunto de normas y valores específicos que comparte el equipo de trabajo y que influyen en como se comportan a lo largo del tiempo y sobre todo cómo es la interrelación con nuestros grupos de interés tanto internos como externos[15].

## CONCLUSIONES

El tutor es la columna vertebral de la FSE, pero debe ser capaz de distribuir la carga de la responsabilidad en los otros actores que están involucrados en este proceso. En los tiempos actuales, es evidente que el perfil del residente que entra es un residente con mayor capacidad y conocimiento del uso de la tecnología, pero con menor resiliencia y tolerancia al estrés y en ese aspecto creemos que puede limitar su desenvolvimiento en los servicios formativos. No es factible cambiar la forma de enseñanza, en el sentido que aún tenemos muchas acciones manuales que de momento distan en desaparecer (tallado y valoración al microscopio) pero sí es posible modificar las formas de evaluación del residente, más objetiva, dinámica, responsable, acorde con los tiempos actuales y que el tutor no sea un mero esclavo responsable de la formación del MIR.

Los procesos de mejora continua deben incorporarse en todos los servicios, porque de esta manera también estamos hablando de calidad y excelencia en la atención sanitaria.

**Agradecimiento**

A todos aquellos especialistas que dedican horas, esfuerzo, dedicación y vida en la formación del residente, que, a pesar de no estar reconocido, permanece firme por vocación. A todos los tutores que colaboraron con sus opiniones y participaron en la encuesta.

## Bibliografía

1. Ruiz de Gauna, P. Morán-Barrios, JMGuía del tutor para planificar y gestionar la formación de los residentes Tutor's guide to planning and managing the training of residents. Aula de educación médica. DOI: 10.1016/j.edumed.2022.100713.
2. Real Decreto 183/2008, de 8 de febrero, por el que se determinan y clasifican las especialidades en Ciencias de la Salud y se desarrollan determinados aspectos del sistema de formación sanitaria especializada [consultado 8 Feb 2021]. Disponible en: https://www.boe.es/boe/dias/2008/02/21/pdfs/A10020-10035.pdf
3. Vicent-García MD. El tutor de formación sanitaria especializada en España (parte II): funciones y medidas para facilitar el desempeño de la tutoría. The specialized health training tutor in Spain (part II): Functions and measures to facilitate the performance of tutoring. Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid, Madrid, España. Educación Médica 22 (2021) 287-293.
4. Fernández Pardo J, Meseguer Frutos MD, Millán Rodríguez MR, García Puche MJ, Morán Barrios J, Pérez Iglesias F. Qué dedicación, reconocimiento e incentivación tienen los tutores de residentes. Resultados parciales del estudio sobre la formación sanitaria especializada en España-AREDA. 2015 [consultado 27 enero de 2025]. Disponible en: https://sefse-areda.com/links-yrecursos/ situacion-fse-en-espana-2015/.
5. https://www.sanidad.gob.es/areas/profesionesSanitarias/profesiones/funcionTutorialAP/docs/Acuerdo_incentivo_tutores_AP.pdf [consultado 27 enero de 2025]
6. https://unitatdocentcastello.wordpress.com/wpcontent/uploads/2017/04/borrador-tutor-mir.pdf [consultado 27 enero de 2025]
7. https://facme.es/wp-content/uploads/2022/07/17.04.2022-Modelo-de-Recertificacion-de-las-Sociedades-Cientifico-Medicas-de-Espana.-FACME.pdf [consultado 27 enero de 2025]

8. Corres-González, J., Antoral-Arribas, García-Pérez, F., Julián-Jiménez, A., Medina-Durán, A., Ocaña-Villegas, J., González-Anglada, I., Fernández-Rodríguez, S., Morán-Barrios, J. Conclusiones del I Foro Nacional de jefes de Estudio, técnicos docentes y responsables autonómicos de Formación Sanitaria Especializada y del II Congreso Nacional de Formación Sanitaria Especializada (XIV Encuentro Nacional de tutores y jefes de Estudio). SEFSE-AREDA 2017, Madrid 28-29 de septiembre

9. Vicent-García, MD. El tutor de formación sanitaria especializada en España, parte I): Regulación y reconocimiento de su labor. Educación Médica 22 (2021) 24-247.

10. Rocío López-Pérez, R., Aranda-García, MJ, Pérez-Cánovas, C., Muñoz-Rodríguez, MN; Rodríguez-Rabadán, MD. ¿Con qué herramientas contamos para ser tutores? Poster. Congreso nacional SEFSE AREDA | XX Encuentro de tutores y jefes de estudio. Pamplona 23-24 Oct 2024

11. Real academia española, significado de la palabra competencia y competitividad. https://www.rae.es/diccionario-lengua-espanola-rae-buscadores/google [Consultado 17 enero 2025]

12. Ruiz De Gauna Bahillo, MP; Calabozo-Raluy, M; Carrasco-González, A. Rúbrica para evaluar las rotaciones de los residentes de ciencias de la salud. póster. Congreso nacional sefse areda | xx encuentro de tutores y jefes de estudio.

13. Rios-Pelegrina, RM, Barbella-Aponte, RA, Gómez-Mateo, MC. Ser residente de anatomía patológica en la tercera década del SXXI. Grupo de trabajo de tutores MIR de Anatomía Patológica. Libro Blanco 2023 pp19-59.

14. Evaluación 360º. https://www.personio.es/glosario/evaluacion-360/. [fecha de consulta 19 enero 2025].

15. Rollán, P. Liderazgo y Estrategia. Programa Máster en Dirección Sanitaria y Gestión Clínica, Universidad Internacional de Valencia. Oct 2023.

# Grupo de trabajo de Vocales MIR y de la Comisión Nacional

# Resultados del cuestionario de satisfacción sobre la calidad docente en la Formación Sanitaria Especializada e impacto en la calidad de vida

**Begoña Heras Morán[1], Vanesa Alzate Isaza[2], Flavia María del Rosario Alberto[3]**

1. *Hospital General Universitario de Castellón, Universidad Jaume I Castellón, Vocalía de Residentes de la Sociedad Española de Anatomía Patológica*
2. *Hospital Universitario de Jaén, Vocal MIR de la Comisión Nacional de la Especialidad de Anatomía Patológica*
3. *Hospital Universitari Parc Taulí, Vocal MIR de la Comisión Nacional de la Especialidad de Anatomía Patológica*

## INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, la anatomía patológica ha vivido una transformación profunda impulsada por el avance tecnológico y la creciente comprensión de los mecanismos moleculares de las enfermedades. La introducción de técnicas como la inmunohistoquímica avanzada, la secuenciación genómica masiva (NGS) y la patología digital ha permitido diagnósticos más precisos y personalizados, fundamentales para la medicina moderna. Estos avances han posicionado a la especialidad como una pieza clave en la gestión clínica, con un impacto directo en decisiones terapéuticas y el pronóstico. Sin embargo, esta evolución tecnológica ha planteado desafíos significativos para el ejercicio y la formación en esta disciplina, especialmente en España.

A pesar de su relevancia creciente, la anatomía patológica en España enfrenta una situación preocupante marcada por la falta de profesionales, el escaso reconocimiento social y la limitada inversión económica en la especialidad[1,2].

La carencia de patólogos es un problema estructural que afecta tanto a hospitales grandes como pequeños. Según datos recientes, en España se necesita un 20 % más patólogos. Esta escasez no solo incrementa la carga laboral de los especialistas, sino que también afecta la calidad y los tiempos de respuesta diagnóstica, con consecuencias directas para los pacientes y el sistema de salud[1,2].

La escasa inversión económica en infraestructura y formación es otro obstáculo que limita el desarrollo pleno de la anatomía patológica en España. En un contexto donde la patología molecular y la inteligencia artificial están redefiniendo los estándares diagnósticos, muchos servicios de anatomía patológica operan con recursos insuficientes, tanto en equipamiento como en personal. La falta de acceso generalizado a tecnología moderna y el escaso apoyo para iniciativas de formación continua dificultan la implementación de avances que ya son comunes en otros países[1,2].

La complejidad creciente de nuestra especialidad médica junto con la situación actual de déficit de profesionales e inversión económica son factores que impactan directamente en la calidad de la docencia y las condiciones laborales de los médicos internos residentes (MIR)[2].

### Objetivo

Desde la Vocalía de Residentes de la Sociedad Española de Anatomía Patológica y la Representación de Residentes de la Comisión Nacional de la Especialidad hemos diseñado una encuesta para conocer la opinión de los médicos internos residentes españoles sobre la calidad de la docencia y la disponibilidad de recursos durante la formación sanitaria especializada en anatomía patológica, y cómo impacta este período particularmente exigente de la formación en su calidad de vida y salud mental.

El objetivo es identificar áreas de mejora e impulsar nuevos proyectos para avanzar hacia una formación sanitaria especializada de mayor calidad.

### Diseño de la encuesta

El público diana de la encuesta son médicos internos residentes que están realizando actualmente la formación sanitaria especializada en Anatomía Patológica en España (promociones a partir del año 2021), y aquellos facultativos especialistas que terminaron su formación en 2024.

La encuesta se compone de 95 cuestiones cuidadosamente diseñadas para recoger datos sobre demografía, infraestructura y recursos, horario laboral y remuneración, plan de formación y docencia, apoyo, supervisión y evaluación de los tutores, ambiente laboral, rotatorios externos, actividades extracurriculares, plan de formación, salidas laborales, calidad de vida y estado de ánimo. Incluye una combinación de preguntas cerradas que nos proporcionan datos cuantificables y estadísticas precisas, y preguntas abiertas para permitir a los participantes expresar sus opiniones de forma abierta y compartir su experiencia individual.

La recopilación de datos se ha realizado a través de una plataforma online asegurando el anonimato, la confidencialidad y la accesibilidad para los encuestados. La totalidad de los encuestados ha aceptado la cláusula de protección de datos conforme al Reglamento General de Protección de Datos (RGPD) y la Ley Orgánica de Protección de Datos (LOPDGDD).

## RESULTADOS DE LA ENCUESTA

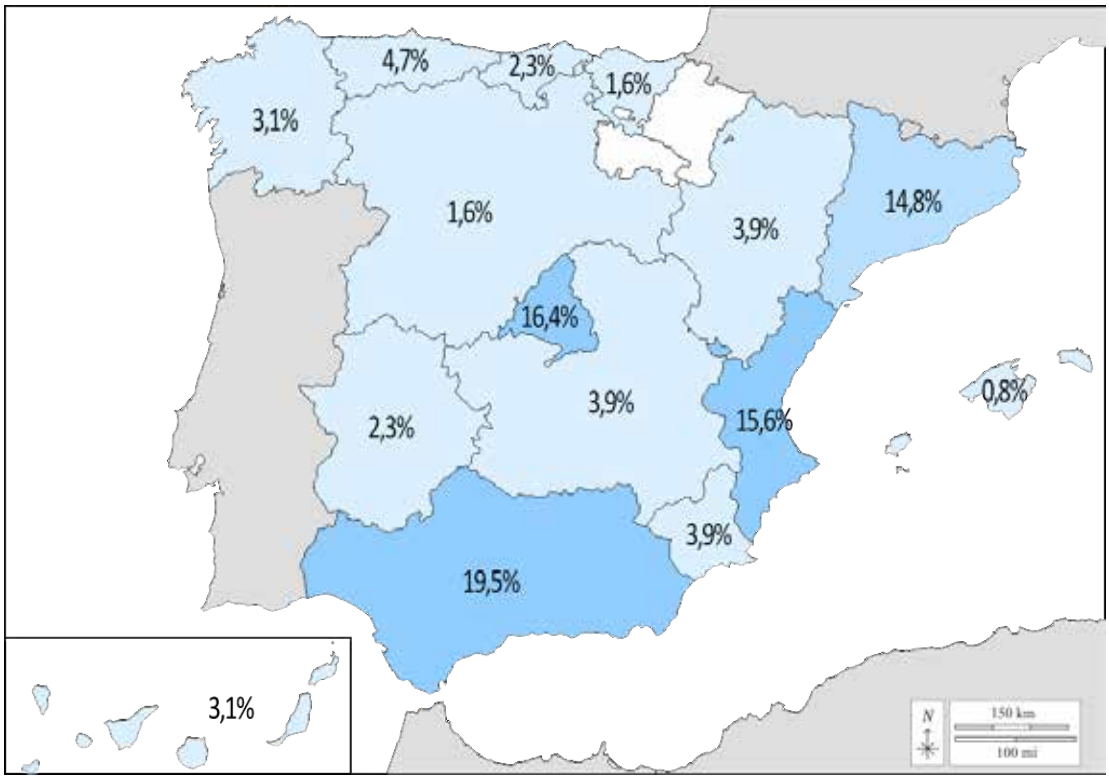
### Datos demográficos y del funcionamiento de los servicios

La encuesta ha contado con la participación de 128 individuos. El grupo está compuesto por un 15,6 % de residentes de primer año, un 16,4 % de segundo año, un 22,7 % de tercer año, un 28,1 % de cuarto año y un 14,8 % de especialistas recién titulados (Figura 1). Un 21,1 % de los encuestados había realizado previamente una formación sanitaria especializada en otra especialidad, siendo la más frecuente Medicina Familiar y Comunitaria.

**Figura 1.** Gráfico circular sobre el año de residencia que se encuentran cursando actualmente los encuestados. R1: Primer año. R2: Segundo año. R3: Tercer año. R4: Cuarto año. A1: Especialistas que terminaron la formación sanitaria especializada en 2024.

En términos geográficos, han participado individuos de todas las comunidades autónomas excepto La Rioja, La Comunidad Foral de Navarra, y las Ciudades Autónomas de Ceuta y Melilla. Las comunidades autónomas con mayor representación son Andalucía (19,5 %), la Comunidad de Madrid (16,4 %), Cataluña (14,8 %) y la Comunidad Valenciana (15,6 %) (Figura 2).

**Figura 2.** Distribución geográfica de los encuestados.



La formación de los encuestados se lleva a cabo en hospitales de nivel 2 (6,3 %), nivel 3 (40,6 %) y nivel 4 (53,1 %), siendo en su mayoría de gestión pública (94,5 %).

El número de biopsias anuales asumidas por los servicios de los encuestados oscila entre 10.000 y 80.000, con una media de 29.547,3. En cuanto a las autopsias, excluyendo las autopsias fetales y perinatales, el rango varía entre 2 y 100 al año, con una media de 30 autopsias anuales.

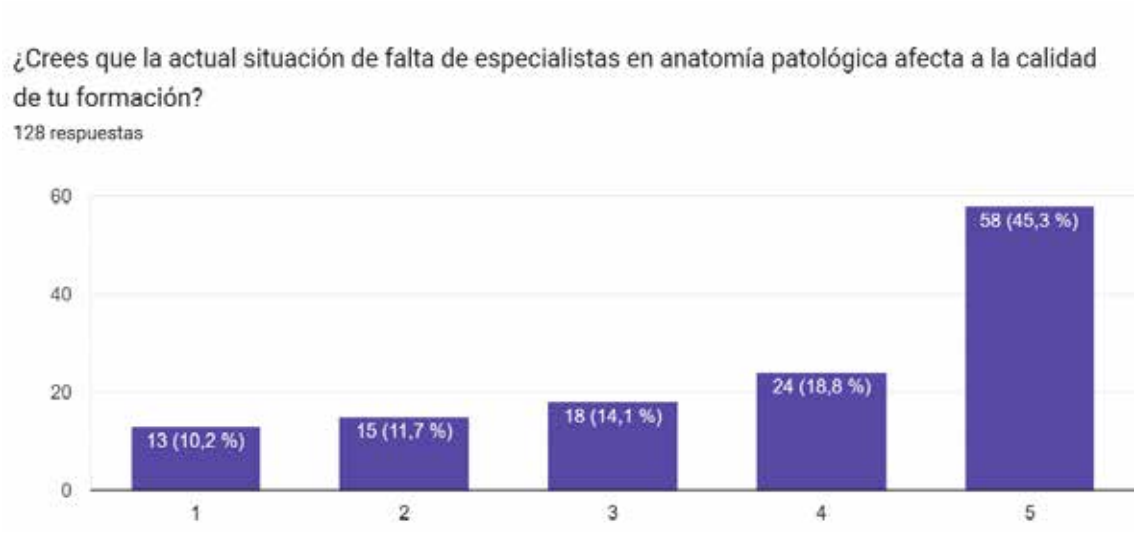
Las unidades docentes de los encuestados disponen de entre 1 y 4 plazas de formación al año, con una considerable variabilidad en el número total de residentes en los distintos servicios, que fluctúa entre 2 y 16, con una media de 7,18 residentes.

El número de facultativos especialistas contratados varía entre 1 y 30, con una media de 13,25. En el 72,1 % de los servicios de los encuestados existen facultativos especialistas subespecializados. La tasa de especialistas por residente también muestra una amplia variabilidad, oscilando entre 0,5 y 7,5, con una media de 2,14.

En cuanto al volumen de trabajo, la media de biopsias anuales por especialista es de 2255. Sin embargo, un 10 % de los servicios registra más de 3.000 biopsias por especialista al año. Respecto a las autopsias, el número anual por especialista oscila entre 0,18 y 8,33, con una media de 2,11. Estos datos reflejan una distribución desigual en la carga de trabajo de los especialistas en anatomía patológica en España, destacando una sobrecarga significativa en ciertos centros.

Ante la pregunta de si la falta de especialistas afecta a la calidad de la formación, un 64,1 % de los encuestados está de acuerdo, muy de acuerdo o totalmente de acuerdo con esta afirmación (Figura 3).

**Figura 3.** Gráfico de barras representando las respuestas a la pregunta sobre si la actual situación de falta de especialistas afecta a la calidad de la formación. La valoración se realizó en una escala del 1 al 5, siendo 1 totalmente en desacuerdo, y 5 totalmente de acuerdo.




Resumen y conclusiones:

- La encuesta fue respondida por un porcentaje similar de residentes en los distintos años de formación.
- Además, los datos recopilados abarcan una amplia representatividad del territorio español, con especial énfasis en hospitales de niveles 3 y 4, donde se concentra gran parte de la oferta de plazas de formación sanitaria especializada en anatomía patológica.

- Los datos reflejan una carga de trabajo desigual entre los especialistas en anatomía patológica en España, con algunos centros enfrentando una sobrecarga significativa que puede repercutir tanto en la calidad del trabajo como en la formación de los residentes. El alto porcentaje de encuestados que perciben un impacto negativo de la falta de especialistas en la calidad de la formación pone de manifiesto la necesidad de abordar esta problemática de manera prioritaria.

**Recursos y entorno de trabajo**

Un 44,5 % de los encuestados considera que no dispone de los recursos materiales y tecnológicos adecuados para realizar su trabajo. Entre los recursos más mencionados como insuficientes destacan el número limitado de mesas con campana extractora para el estudio macroscópico, la carencia de instrumental adecuado y material fungible, así como la escasez de microscopios multicabezales, microscopios individuales y ordenadores (frecuentemente compartidos entre residentes). Además, se señala la falta de mantenimiento en las salas de autopsias y la insuficiencia de medidas de seguridad frente a la exposición a formaldehído y otros químicos perjudiciales para la salud.

Por otro lado, un 48,4 % afirma que el entorno de trabajo (espacios, instalaciones, equipo, mobiliario) es inadecuado para realizar sus tareas de forma cómoda y eficiente. Los encuestados destacan la falta de espacio y ventilación en despachos y salas de estudio macroscópico, la ausencia de áreas de descanso, el mobiliario antiguo y poco ergonómico, y el mantenimiento deficiente (limpieza insuficiente, fallos en el aire acondicionado o calefacción y problemas estructurales como goteras).

En contraste, el acceso a bibliografía especializada y recursos online fue valorado positivamente por un 86,7 % de los encuestados, que lo calificaron entre 3 y 5 en una escala del 1 al 5. Sin embargo, un 13,3 % señaló limitaciones en la accesibilidad a revistas científicas actualizadas.

Resumen y conclusiones:

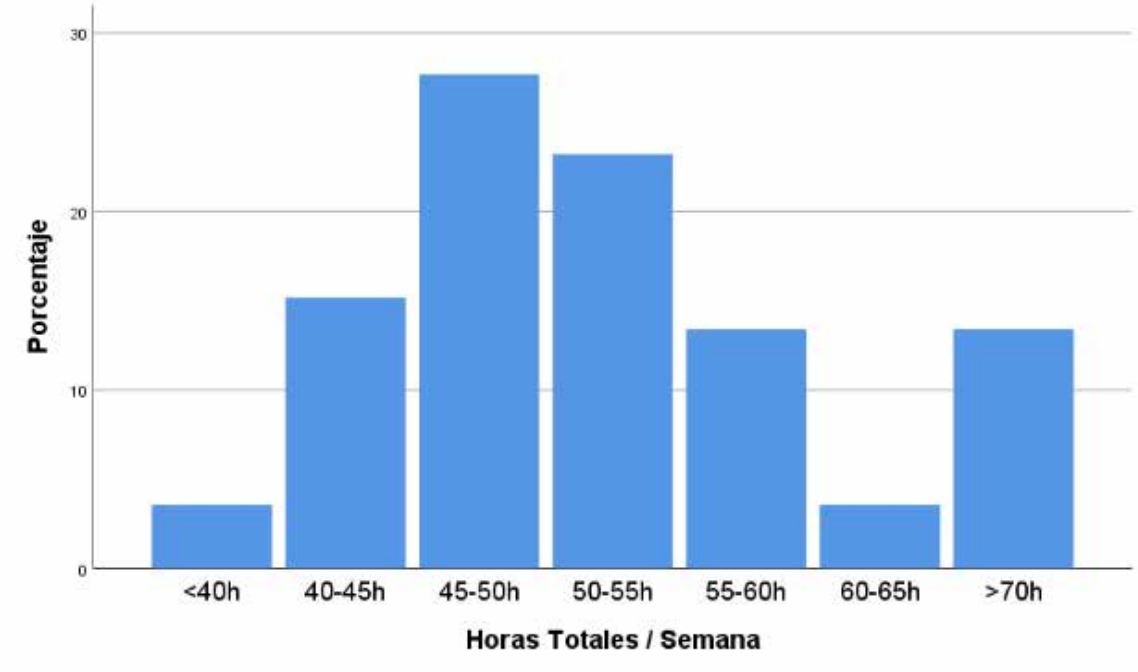
- Los resultados de la encuesta evidencian una necesidad urgente de mejorar los recursos materiales, tecnológicos y las condiciones del entorno laboral para garantizar un desempeño óptimo y seguro de las tareas.
- Es prioritario incrementar el número y la calidad de herramientas como microscopios, mesas con campana extractora y ordenadores, así como asegurar un mantenimiento adecuado de las instalaciones, especialmente cuando implican un riesgo laboral para los trabajadores.
- Además, resulta fundamental implementar medidas efectivas para mejorar la ergonomía, la ventilación y el mantenimiento de los espacios de trabajo, incluyendo la habilitación de áreas de descanso que favorezcan el bienestar del personal.
- Finalmente, aunque el acceso a bibliografía y recursos online es positivo, se debe trabajar en la mejora de la accesibilidad a revistas científicas actualizadas, con el objetivo de fomentar una formación continua y una práctica profesional basada en la evidencia más reciente.

**Horario y remuneración**

La carga horaria reportada por los encuestados fue considerablemente elevada, con jornadas promedio que superan las 55 horas semanales incluyendo horas extraordinarias (Figura 4). Un 30 % trabaja más de 55 horas a la semana (Figura 4).

Para el 81,3 % estas horas extras son obligatorias, mientras que un 16,4 % las realiza de forma opcional. La mitad de los encuestados reporta un mínimo mensual de jornada extraordinaria que varía entre 3 y 120 horas, con una media de 35 horas. Por otro lado, un 47,7 % indica la existencia de un máximo de horas extra, que oscila entre 5 y 145 horas mensuales, siendo la media de 56 horas.

**Figura 4.** Gráfico de barras de horas totales trabajadas a la semana por los encuestados.




En relación con las guardias de urgencias, un 26,6 % de los residentes señala que estas son obligatorias, especialmente durante el primer año de residencia, con una media anual de 38,67 guardias. Un 66,7 % afirma que estas actividades impactan negativamente en su formación como especialistas.

En cuanto a la remuneración, los ingresos netos mensuales presentan una amplia variación, entre 1.180 y 3.100 euros, con una media de 1.882 euros. Estas diferencias parecen estar vinculadas a factores como la comunidad autónoma donde se realiza la formación, el año de residencia y el cómputo de horas extraordinarias trabajadas.

Resumen y conclusiones:

- Los datos evidencian una carga laboral excesiva para una parte significativa de los residentes, con un impacto negativo tanto en su formación como en su bienestar. La obligatoriedad de horas extraordinarias y guardias prolongadas, sumadas a una remuneración variable y, en algunos casos, insuficiente (media calculada de 8,7 euros la hora de trabajo a partir de los datos de la encuesta), así como el impacto negativo de las guardias de urgencias en la formación, subrayan la necesidad de cambios estructurales.
- Existe una necesidad de establecer límites claros y uniformes para las jornadas extraordinarias y guardias, acompañados de una adecuada compensación económica y medidas que prioricen el equilibrio entre la formación, el descanso y la calidad de vida de los residentes. Además, sería esencial promover una revisión de las políticas retributivas para reducir las disparidades entre comunidades autónomas.

**Docencia y desempeño de los tutores**

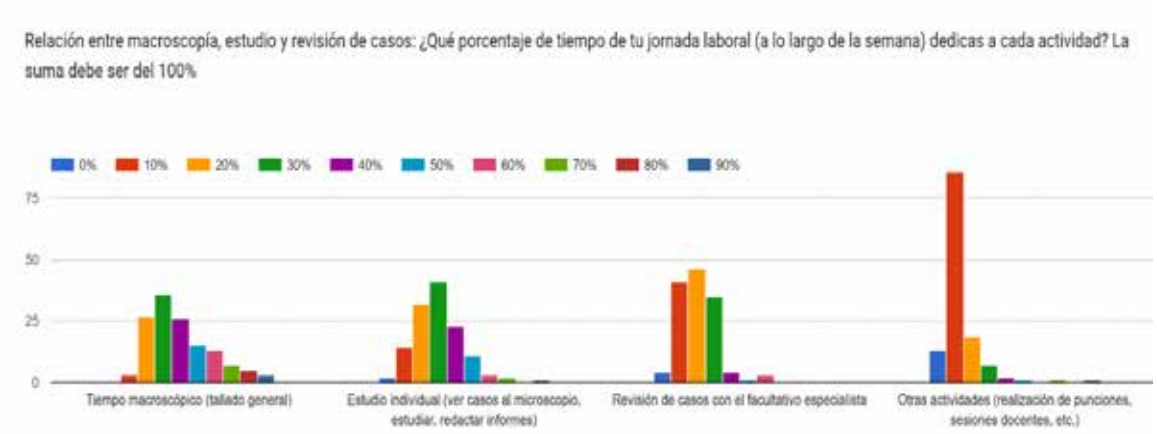
En la mayoría de los servicios encuestados (78,9 %), las rotaciones durante la formación sanitaria especializada se organizan por subespecialidades o áreas específicas.

En el 93 % de los servicios se realizan sesiones docentes, con una frecuencia media de 1,95 sesiones por semana. Solo un 8,3 % de los servicios organiza menos de una sesión semanal.

Un adecuado equilibrio entre el estudio macroscópico, el estudio individual, la revisión de casos con el especialista y la participación en actividades complementarias como sesiones, procedimientos intervencionistas o comités multidisciplinares, es esencial para garantizar una formación de calidad.

Según los resultados de la encuesta, de media los residentes dedican un 40 % de su tiempo al estudio macroscópico, sin embargo, un 10 % de los encuestados emplean más del 70 % de su tiempo en esta actividad (Figura 5). El estudio individual ocupa un promedio del 30 % del tiempo, mientras que la revisión de casos con el facultativo especialista representa entre el 10 % y el 30 % del tiempo para el 91,5 % de los encuestados (Figura 5). El resto de las actividades consumen de media un 13 % del tiempo (Figura 5). Estos datos revelan una distribución desigual en el tiempo de formación, con una posible sobrecarga en determinadas áreas que podría ajustarse para promover un aprendizaje más equilibrado.

**Figura 5.** Gráficos de barras representando el porcentaje de tiempo de la jornada laboral dedicado a cada actividad.




De acuerdo con la normativa de la formación sanitaria especializada deben realizarse cuatro entrevistas anuales para valorar los avances y déficits del especialista en formación y posibilitar la incorporación al proceso de medidas de mejora identificar problemas y proponer soluciones. Sin embargo, un 25,8 % de los residentes afirma no recibir evaluaciones, y un 30,5 % señala que estas se llevan a cabo menos de dos veces al año. El 32,8 % de los encuestados reporta ser evaluado entre 2 y 4 veces al año, mientras que solo un 10,9 % recibe más de cuatro evaluaciones anuales.

En cuanto a la supervisión por parte de los adjuntos, la valoración es variable. Un 22,9 % de los encuestados considera que no es satisfactoria, un 18,8 % se mantiene neutral, y un 48,4 % la valora como muy o totalmente satisfactoria (Figura 6).

**Figura 6.** Representación gráfica de la valoración de la supervisión de los residentes por parte del facultativo especialista. Las respuestas se representan en una escala numérica, siendo «1» totalmente insatisfactoria, y «5» totalmente satisfactoria.

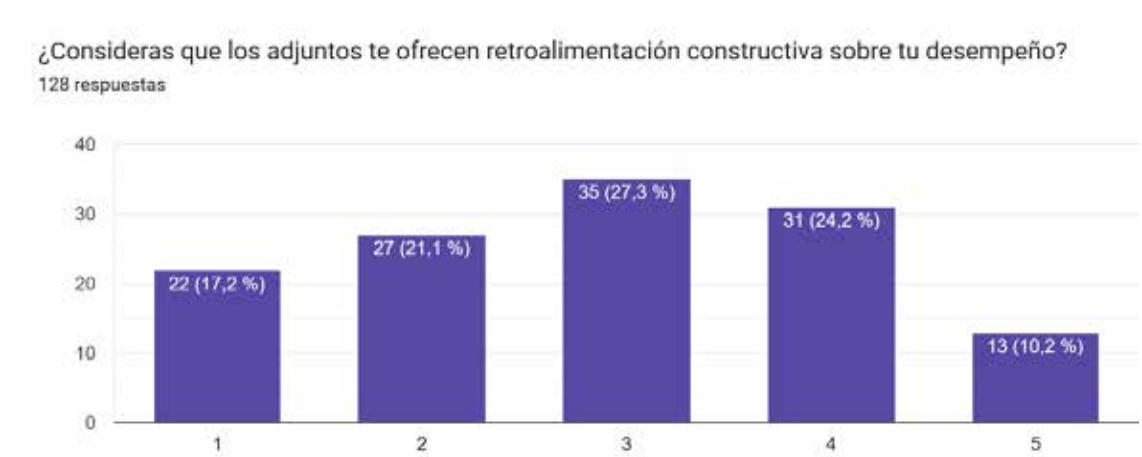
Respecto a la percepción sobre la justicia y precisión de las evaluaciones, un 32,9 % considera que no reflejan su verdadero desempeño, un 28,6 % se muestra indiferente o parcialmente de acuerdo, y un 39,9 % está de acuerdo en que las evaluaciones son justas (Figura 7).

**Figura 7.** Representación gráfica de las respuestas a la pregunta ¿Consideras que las evaluaciones son justas y reflejan tu verdadero nivel de competencia? Las respuestas se configuran en una escala numérica, siendo «1» totalmente en desacuerdo, y «5» totalmente de acuerdo.

En relación con el interés mostrado por los tutores o responsables de formación hacia el desarrollo profesional y académico de los residentes, las opiniones están divididas, con puntuaciones distribuidas de manera similar en una escala del 1 al 5, siendo 1 totalmente de acuerdo y 5 totalmente en desacuerdo (15,6 %; 21,2 %; 19,5 %; 23,4 %; 20,3 %).

Además, un 38,3 % de los encuestados considera que recibe poca o ninguna retroalimentación constructiva sobre su desempeño (Figura 8).

**Figura 8.** Representación gráfica de las respuestas a la pregunta sobre la retroalimentación constructiva sobre el desempeño por parte de los adjuntos. Las respuestas se configuran en una escala numérica, siendo «1» totalmente en desacuerdo, y «5» totalmente de acuerdo.




En contraposición, el 89,1 % de los encuestados afirma que la relación con sus compañeros en formación es adecuada y favorece el aprendizaje colectivo.

La satisfacción global con la calidad docente obtuvo una puntuación media de 5,83 sobre 10. Si bien un 28,3 % de los encuestados se declaró muy satisfecho (puntuaciones de 7 a 10), un 26,8 % expresó insatisfacción (puntuaciones de 1 a 4), reflejando opiniones divididas.

**Figura 10.** Gráfico de barras representando el nivel de satisfacción con la calidad global de la formación recibida durante la residencia, de 1 al 10 (siendo 1 totalmente insatisfecho, y 10 totalmente satisfecho).

Además, en una escala del 1 al 5 sobre la preparación percibida al finalizar la formación, solo un 40,7% de los residentes se sintió bien o muy bien preparado para ejercer como especialista (puntuaciones 4 y 5), con una media de 3,2 (Figura 11). A la pregunta de si hay áreas en las que les gustaría recibir más formación o experiencia práctica durante su residencia (p. ej autopsias, biología molecular, citología), las áreas destacadas y mencionadas repetidamente por los encuestados son biología molecular, patología autópsica, citología, patología intervencionista, neuropatología, partes blandas, pediatría y hematología.

**Figura 11.** Representación gráfica de las respuestas a la pregunta ¿Qué tan preparado te sientes para acceder a tu puesto de trabajo como especialista al finalizar la residencia? Las respuestas se representan con una escala numérica del 1 al 5, siendo «1» nada preparado, y «5» totalmente preparado.

Resumen y conclusiones:

- Los datos muestran que existen importantes desequilibrios en la distribución del tiempo dedicado a las diferentes actividades formativas, con una sobrecarga en el estudio macroscópico en detrimento de otras áreas clave.
- Además, la frecuencia insuficiente de evaluaciones en un porcentaje significativo de los casos, junto con la percepción de falta de retroalimentación constructiva y el interés limitado de los tutores, puede estar afectando la calidad de la formación.
- La valoración media de la calidad docente (5,83 sobre 10) y las opiniones divididas sobre la preparación al terminar la formación reflejan la necesidad de cambios para mejorar la experiencia formativa.

**Rotaciones externas**

Un 40,5 % de los residentes tiene la posibilidad de realizar rotaciones externas sin restricciones dentro del marco normativo vigente de la formación sanitaria especializada en nuestro país. Sin embargo, para un 54,8 % estas están limitadas, un 4 % solo puede realizar las rotaciones obligatorias, y un 0,8 % no tiene permitido realizarlas. En la mayoría de los casos, los residentes pueden realizar entre 2 y 4 meses de rotaciones externas al año, aunque muchos destacan que esta posibilidad se restringe exclusivamente al último año de residencia.

En algunos hospitales de España, la falta de ciertas áreas formativas obliga a los residentes a realizar rotaciones externas en otros centros, una necesidad que afecta al 43,8 % de los encuestados. Estas rotaciones obligatorias son organizadas por los tutores o responsables de docencia en el 64,8 % de los casos, mientras que el resto debe gestionarlas por su cuenta. Pese a esta obligatoriedad, que frecuentemente implica desplazamientos, solo un 15,1 % de los residentes recibe algún tipo de ayuda económica de su centro sanitario para cubrir los gastos asociados.

En cuanto a las actividades docentes extracurriculares, la media anual es de 4,6 actividades, aunque casi un 60 % de los residentes participa en menos de cuatro al año. Esta limitación genera insatisfacción en un 37,8 % de los encuestados. Respecto a la financiación para dichas actividades, un 36,8 % de los residentes no recibe apoyo económico, un 19,2 % lo recibe puntualmente, un 24,8 % a veces, un 16,8 % a menudo y solo un 2,4 % siempre cuenta con esta ayuda.

Resumen y conclusiones:

- Aunque una parte significativa de los residentes tiene acceso a rotaciones externas, las restricciones y limitaciones temporales, junto con la falta de apoyo económico en la mayoría de los casos, dificultan su adecuada realización, especialmente en aquellas necesarias por la ausencia de áreas formativas obligatorias en ciertos hospitales. Asimismo, la baja frecuencia de actividades docentes extracurriculares y la limitada financiación para participar en ellas reflejan carencias en el enriquecimiento formativo de los residentes.
- Existe la necesidad de flexibilizar las condiciones para realizar rotaciones externas a lo largo de toda la residencia y garantizar un apoyo económico adecuado para cubrir los gastos de desplazamiento. Además, sería deseable promover un mayor número de actividades extracurriculares de calidad y establecer mecanismos de financiación más consistentes para facilitar la participación de los residentes en estas oportunidades formativas.

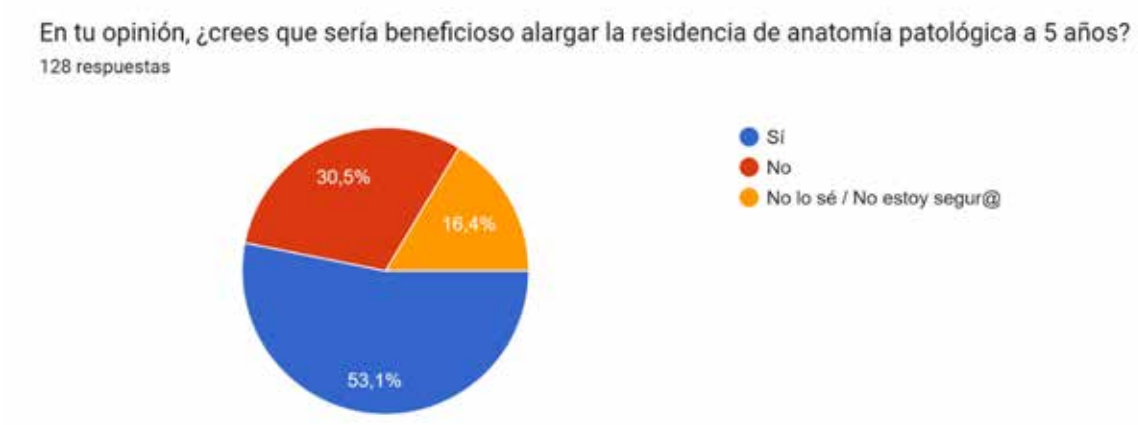
**Plan de formación**

En cuanto a la percepción sobre la claridad y estructura del plan de formación en la especialidad, las opiniones están distribuidas de manera relativamente equilibrada. Basándose en una escala del 1 (nada de acuerdo) al 5 (totalmente de acuerdo), la mayoría (38,1 %) dio una puntuación de 3, mostrando conformidad parcial. Un 20,6 % calificó con un 2 y otro 20,6 % con un 4, reflejando un equilibrio entre percepciones positivas y negativas. Además, el 15,9 % otorgó la puntuación mínima (1), mientras que solo el 4,8 % dio la puntuación máxima (5). Estos resultados indican, en general, que el plan de formación no alcanza a cumplir las expectativas esperadas por los residentes en cuanto a su organización y claridad.

Sin embargo, frente a la pregunta sobre el cumplimiento del plan formativo en cada servicio, siguiendo la escala del 1 al 5, la mayoría (33,3 %) otorgó una puntuación de 4, indicando una valoración mayoritariamente positiva. Sin embargo, el 15,9 % asignó la puntuación mínima de 1, reflejando disconformidad. Estos datos, destacan una percepción general favorable, aunque evidencian la necesidad de fortalecer ciertos aspectos para garantizar un cumplimiento del plan formativo más consistente.

Con respecto a la opinión sobre si pudiera ser beneficioso alargar la residencia de anatomía patológica de 4 a 5 años, un 53,1 % respondió afirmativamente, un 30,5 % en contra, y el 16,4 % manifestó incertidumbre respecto a este aspecto (Figura 12).

**Figura 12.** Gráfico circular mostrando la respuesta a la pregunta de si será beneficioso alargar la residencia de anatomía patológica a 5 años.



Las justificaciones a esta pregunta han sido variadas, ya que la propuesta genera opiniones divididas entre los profesionales. Por un lado, muchos consideran que alargar la especialidad a 5 años sería beneficioso debido a su gran extensión y complejidad. Explican que la Anatomía Patológica abarca un enorme volumen de conocimientos, que incluye patología general, subespecialidades específicas y técnicas avanzadas como la biología molecular y la utilización de la digitalización. El avance constante de estas áreas, junto con la aparición de nuevas entidades diagnósticas y biomarcadores, hace que cuatro años resulten insuficientes para adquirir una formación completa. Además, el quinto año permitiría a los residentes afianzar conocimientos, realizar revisiones más complejas y ganar experiencia en áreas que a menudo no se profundizan lo suficiente en los planes actuales.

Otro argumento a favor es que un quinto año podría ser utilizado para aumentar la autonomía progresiva de los residentes, permitiéndoles asumir mayores responsabilidades, como podría ser la firma de informes bajo supervisión, y prepararlos mejor para el ejercicio independiente como especialistas. Esto también podría equiparar la duración de la formación en España con la de otros países, donde la especialidad dura entre cinco y seis años. Sin embargo, para que este cambio sea efectivo, se insiste en que sería necesario un plan de formación bien estructurado, que evite que este año adicional se convierta simplemente en una extensión del trabajo repetitivo y/o en un pretexto para mantener a los residentes como una opción de trabajo más económica.

En contrapartida, hay quienes consideran que alargar la residencia no sería la solución más adecuada. Uno de los argumentos principales es que el problema no reside en la duración de la formación, sino en la calidad y organización del programa actual. Muchos encuestados expresan una falta de enfoque formativo, con rotaciones mal diseñadas o excesivo tiempo dedicado a tareas repetitivas, como lo es por ejemplo el tallado de muestras. La extensión de la duración de la residencia sin una mejora en el programa formativo podría ser poco efectivo y, en algunos casos, perjudicial para la salud mental de los residentes, que ya evidencian problemas de esta índole en algunos servicios. Desde esta perspectiva, se propone optimizar los cuatro años actuales mediante una mejor distribución del tiempo, reducción de tareas repetitivas y un mayor compromiso de los adjuntos con la docencia.

Además, existen quienes temen que un quinto año pueda perpetuar las malas condiciones laborales y educativas que suceden en la actualidad, señalando que, en muchos casos, los residentes de último año asumen responsabilidades similares a las de los adjuntos, pero con menor salario y condiciones laborales desfavorables. Alargar la residencia podría agravar esta situación, convirtiéndose en un año adicional de sobrecarga laboral sin un beneficio formativo real. Por ello, algunos opinan que es preferible finalizar la residencia en el tiempo ya estipulado y adquirir experiencia adicional como adjunto o mediante programas de subespecialización.

Como propuesta intermedia, se plantea que, de implementarse un quinto año, este debería estar específicamente orientado a cubrir las necesidades formativas aún no satisfechas, como la patología molecular, y facilitar una transición más gradual hacia el rol de adjunto, permitiendo además la firma de informes bajo supervisión. Asimismo, se menciona la importancia de librar a los residentes de tareas repetitivas, como por ejemplo mediante la incorporación de profesionales técnicos en anatomía patológica, lo que posibilitará un mejor aprovechamiento del tiempo durante los años de formación.

Resumen y conclusiones:

- A partir de los resultados obtenidos, se puede concluir que la percepción sobre el plan de formación en la especialidad de Anatomía Patológica es diversa, reflejando tanto conformidad parcial como puntos de insatisfacción. Una gran parte mostró una postura intermedia, indicando que existen aspectos a mejorar en la estructura y claridad del plan. Aunque algunos residentes consideran insuficientes los cuatro años actuales, la mayoría no está completamente satisfecha con su estructura, sugiriendo la necesidad de una revisión detallada del programa.

- En cuanto al cumplimiento del plan formativo, un elevado número de residentes, lo calificó positivamente, pero también hubo un porcentaje significativo de disconformidad. Esto revela disparidades en su ejecución entre diferentes unidades, lo que podría generar experiencias desiguales, destacando la necesidad de revisar tanto la estructura como su implementación en cada servicio para garantizar una formación coherente y de calidad.
- La discusión sobre la duración de la residencia ha generado opiniones divididas. La mayoría se mostró a favor de extenderla a cinco años debido a la creciente complejidad de la especialidad. Sin embargo, consideran que esta extensión no es una solución definitiva sin una mejora estructural del programa. Los opositores argumentan que los problemas fundamentales residen en la calidad y organización del plan actual, sugiriendo optimizar los cuatro años existentes con una mejor distribución del tiempo y actividades docentes.
- La implementación de un quinto año podría ser beneficiosa, pero debe estar acompañada de un plan bien estructurado que aborde los problemas actuales y optimice el tiempo de formación. Un enfoque equilibrado permitirá a los residentes desarrollar mayor autonomía, mejorando simultáneamente las condiciones laborales y formativas para garantizar una formación de calidad y efectiva para los futuros especialistas.

**Salidas Laborales**

Al analizar las respuestas sobre si la formación recibida prepara adecuadamente a los residentes para el mercado laboral, los resultados muestran que la mayoría (66,4 %) considera que está bien preparada, aunque con áreas a mejorar. Un 23,4 % de los encuestados expresa no sentirse adecuadamente preparado, mientras que un 3,9 % se siente completamente preparado. Por otro lado, el mismo porcentaje (3,9 %) opina que la formación es insuficiente para integrarse al mercado laboral (Figura 13). Dentro de las respuestas adicionales se destacan varias observaciones. Un residente mencionó que «ha aprendido a no seguir el ejemplo de algunos adjuntos de su servicio», lo que refleja una experiencia negativa en cuanto a la relación docente-residente. Otro resaltó la preparación recibida a través de rotaciones externas y el esfuerzo personal fuera del horario laboral, lo que implica que el aprendizaje se está viendo favorecido más por la iniciativa del residente que por la estructura formal del programa.

**Figura 13.** Gráfico circular que muestra las respuestas a la pregunta ¿Consideras que la formación recibida te está preparando adecuadamente para el mercado laboral de tu especialidad?

¿Consideras que la formación recibida te está preparando adecuadamente para el mercado laboral de tu especialidad?
128 respuestas
23,4%
66,4%
Sí, completamente preparada/o
Sí, pero con algunas áreas a mejorar
No, no me prepara adecuadamente
No, la formación es insuficiente para integrarme al mercado laboral
Aprendo a no ser como algunos adjuntos del servicol donde trabajo
Me siento bien preparado por mis rotaciones externas y por los esfuerzo...
A día de hoy tengo mucha incertidum...

Asimismo, se señaló una crítica hacia la falta de planificación docente por parte de los tutores, lo que indica una deficiencia en la organización y estructuración de las sesiones de enseñanza. Se observará

que, aunque algunos adjuntos muestran disposición para ayudar, su enfoque no es pedagógico. Se hizo referencia a la ausencia de sesiones dedicadas al enfoque de muestras específicas, lo que podría limitar la profundización en temas clave. Finalmente, se destacó que el aprendizaje se basa en la experiencia práctica y persiste la incertidumbre sobre el desarrollo de la formación a lo largo de la residencia.

En cuanto a la pregunta sobre la facilidad para encontrar trabajo tras finalizar la formación, los resultados muestran que la mayoría de los encuestados (54,8 %) considera que fue fácil encontrar empleo de manera inmediata. Un 27,9 % también considera que fue fácil, pero en este caso, lograron conseguir empleo algunos meses después de terminar la formación. Por otro lado, un 9 % encontró dificultades para encontrar trabajo, mientras que un 5,8 % lo calificó como muy difícil. Otros participantes de la encuesta señalaron factores que facilitaron su inserción laboral, como la falta de facultativos en su servicio, lo que llevó a contrataciones directas, o la opción de trabajar en el extranjero, destacando el dominio de varios idiomas.

Los datos obtenidos sobre si los residentes mayores que finalizaron su formación en los últimos tres años continúan trabajando en el mismo hospital muestran una distribución variada. El 47,2 % de los encuestados afirmó que sí, mientras que el 33,6 % respondió lo contrario. Un 0,8 % expresó desconocer la situación. Sin embargo, un número significativo de respuestas adicionales proporcionó detalles más específicos sobre la situación laboral de los residentes mayores. Se mencionó que, si bien existen quienes continúan trabajando en el mismo hospital, lo hacen bajo otros tipos de contratos, como los de investigación. También se indicó que quienes no continúan en el mismo hospital es debido a diversas razones, incluyendo insatisfacción con el lugar, o por intereses personales. En general, los datos sugieren que, aunque una parte de los residentes mayores sigue en el mismo hospital, la situación laboral posterior a la formación es diversa y depende de varios factores, como preferencias, circunstancias personales o profesionales de cada residente.

Con respecto a la pregunta de si los residentes que acabaron su formación en los últimos tres años trabajan en otro hospital de la misma Comunidad Autónoma, el 74 % respondió afirmativamente, mostrando una tendencia clara hacia la continuidad laboral en la región. Un 8,9 % señaló que no es el caso, mientras que un 8,1 % refiere falta de conocimiento acerca de la situación. Entre las observaciones añadidas, especificaron que la situación es mixta, con ejemplos como «uno sí y otro no». También se mencionó que, aunque algunos residentes trabajan en la misma Comunidad Autónoma, optan por el sector privado. Otra respuesta destacó que solo una pequeña fracción, como «1 de cada 3» o «2 de 13», se encuentra trabajando en la misma región. En resumen, aunque la mayoría continúa en la Comunidad Autónoma, los destinos laborales varían según circunstancias personales y profesionales.

Acerca del apoyo institucional brindado por tutores o directores de programa respecto a la inserción laboral, las respuestas muestran una opiniones controvertidas. Solo un 7,5 % lo considera excelente y un 23,3 % lo califica como bueno, mientras que un 25,8 % lo evalúa como regular. Sin embargo, el porcentaje más alto, un 32,5 %, lo percibe como deficiente. Entre las respuestas adicionales se menciona que, la mayoría de los residentes no perciben un apoyo institucional para su inserción laboral, haciendo referencia una gestión mayoritariamente autónoma debido a la falta de asesoramiento efectivo.

Las respuestas a la pregunta sobre qué áreas de la formación médica especializada requieren más atención para mejorar las salidas laborales reflejan un consenso en torno a dos aspectos principales. El 56,6 % de los encuestados destacó la importancia de mejorar la formación práctica y las rotaciones clínicas, mientras que un 27 % señaló la necesidad de actualizar los contenidos y avanzar científicamente. Otros aportes, sugieren mejoría en áreas específicas como biología molecular y patología pediátrica, así como la necesidad de un cambio en el sistema de contratación y una mayor calidad en la docencia. Algunos encuestados han desarrollado distintas propuestas relacionadas con la mejora de las salidas laborales, como también han reflejado diversas preocupaciones. Se subraya la importancia de ampliar las oportunidades de formación fuera del hospital, como la asistencia a congresos y cursos, para complementar la enseñanza recibida en el servicio.

En cuanto a las condiciones laborales, se señala que la disponibilidad de puestos de trabajo depende en gran medida de la comunidad autónoma y de los puntos obtenidos en bolsas de empleo, lo que

genera desigualdades. Además, expresan que el proceso de selección laboral no refleja adecuadamente la calidad de la formación recibida durante la residencia, y que en muchos casos los contratos se asignan antes de que los residentes terminen su formación. Otros sugieren mejorar el asesoramiento sobre el mercado laboral y ofrecer más tiempo para que los residentes puedan desarrollar su currículum, investigando y publicando. También se mencionan deficiencias en la calidad de la docencia y la falta de crítica constructiva por parte de algunos tutores. Por último, se destaca que, si bien existe la necesidad de contratar médicos especialistas en anatomía patológica, hay escasez de recursos para hacerlo.

Estos resultados enfatizan la importancia de una formación integral, que combine habilidades prácticas, actualización teórica y reformas estructurales para optimizar las oportunidades laborales de los especialistas.

Las opiniones sobre si la formación especializada ha proporcionado las herramientas necesarias para acceder a oportunidades internacionales reflejan distintas percepciones. El 43,8 % de los encuestados considera que sí, pero reconoce la existencia de áreas en las que aún falta formación. El 39,7 % siente que no está completamente preparado para acceder a dichas oportunidades, mientras que un 5 % afirma estar completamente preparado. Un 10,7 % adicional cree que la formación recibida no es útil para acceder a oportunidades internacionales. Solo un pequeño porcentaje, el 0,8 %, indica que no ha considerado esta posibilidad. En resumen, la mayoría de los residentes perciben la necesidad de mejoras en la formación para acceder con mayor seguridad a oportunidades internacionales en su campo.

Resumen y conclusiones:

- Los resultados obtenidos muestran una visión variada sobre la formación médica especializada, con áreas que requieren atención inmediata para mejorar tanto la calidad formativa como las oportunidades laborales de los residentes.
- Aunque la mayoría considera que la calidad educativa es satisfactoria, se percibe una falta de uniformidad en la enseñanza, con críticas sobre las diferencias en el enfoque pedagógico entre los tutores. Esto señala la necesidad de un cambio en la estructura del sistema de formación para mejorar la experiencia educativa.
- Respecto al mercado laboral, muchos residentes se sienten bien preparados, pero otros consideran que su formación no responde a las demandas actuales, citando la falta de orientación y planificación docente. Aunque algunos encuentran trabajo con facilidad, otros enfrentan dificultades debido a criterios de selección que no reflejan la calidad de la formación.
- Si bien la mayoría de los residentes sigue trabajando en la misma Comunidad Autónoma, la falta de apoyo institucional en la inserción laboral es otro aspecto que trabajar, ya que se observa que existen quienes refieren que deben gestionar las oportunidades por su cuenta, lo que resalta una deficiencia en el acompañamiento institucional.
- Finalmente, las propuestas para mejorar las salidas laborales incluyen fortalecer la formación práctica y teórica, revisar los sistemas de contratación y mejorar el asesoramiento institucional. También se sugiere ofrecer más oportunidades de formación externa y cambiar los procesos de selección laboral, lo que podría optimizar las oportunidades profesionales de los residentes.

**Conciliación vida personal y laboral y salud mental**

Un 76,6 % de los residentes considera que la carga de trabajo es excesiva. En la misma línea, el 63,3 % de los encuestados opina que la formación sanitaria especializada no les permite mantener un adecuado equilibrio entre la vida personal y laboral. Esto repercute directamente en aspectos como la calidad del sueño, el ejercicio físico, los hábitos alimentarios y las relaciones sociales: un 69,5 % de los encuestados afirma dormir menos o peor, un 68 % realiza menos actividad física, un 54,7 % tiene hábitos alimentarios menos saludables y un 70,3 % dedica menos tiempo a sus relaciones sociales.

Además, un 36,7 % reporta haber experimentado problemas graves de salud relacionados con el estrés laboral.

En este contexto, el 67,2 % de los residentes señala haber sufrido el Síndrome de Burnout según la definición de P. Gil Monte: «Respuesta al estrés laboral crónico integrado por actitudes y sentimientos negativos hacia las personas con las que se trabaja y hacia el propio rol profesional, así como por la vivencia de encontrarse agotado». Este desgaste también se refleja en la intención de abandono: hasta un 63 % de los encuestados se ha planteado dejar la formación, con un 7 % que lo considera constantemente. La tasa media de abandono anual calculada a partir de los datos de la encuesta es del 13,68 %, muy por encima de la media española para la formación sanitaria especializada (de un 4,3 % en 2021)[3].

Finalmente, la puntuación media en el Inventario de Beck, un instrumento en forma de cuestionario autoadministrado validado y utilizado ampliamente para medir la incidencia y severidad de la depresión, es de 14,84, situándose en el rango de depresión leve. Un 57,8 % de los encuestados presenta puntuaciones compatibles con depresión: un 16,4 % leve, un 19,5 % moderada y un 11,7 % grave.

Resumen y conclusiones:

- Los resultados reflejan un impacto preocupante de la formación sanitaria especializada en la salud mental y el bienestar de los residentes, con alta incidencia de burnout, problemas de salud relacionados con el estrés y síntomas depresivos.
- Es necesario implementar medidas de mejora para abordar esta situación. Se debe trabajar en la reducción de la carga laboral, promoviendo un mejor equilibrio entre la vida personal y profesional para prevenir el agotamiento.
- Además, es fundamental proporcionar apoyo psicológico para detectar y tratar a tiempo los síntomas de estrés y burnout, garantizando el acceso a servicios de salud mental adecuados y confidenciales. Fomentar la adopción de hábitos saludables entre los residentes, como ejercicio regular, una alimentación equilibrada y la priorización del descanso, también contribuiría a su bienestar general.
- Por otro lado, es crucial mejorar la supervisión de los tutores para identificar signos tempranos de agotamiento y ofrecer el apoyo necesario.
- Finalmente, es imprescindible desarrollar políticas que reduzcan la tasa de abandono y garanticen una formación especializada más sostenible y humana, que permita a los residentes completar su formación con éxito y sin comprometer su salud.

## CONCLUSIONES GLOBALES

Los resultados del cuestionario de satisfacción reflejan una situación compleja y multifacética en la formación sanitaria especializada en anatomía patológica, que incluye una serie de problemas estructurales y operativos que impactan tanto en la calidad de la docencia como en la salud y el bienestar de los residentes. En muchas de las unidades docentes de los encuestados se incumplen los requisitos de acreditación dispuestos por el Ministerio de Sanidad[4].

La escasez de profesionales y los altos volúmenes de trabajo en muchos hospitales contribuyen a una sobrecarga laboral que afecta tanto a la calidad formativa como al estado emocional y físico de los residentes. Además, se identifican carencias en los recursos materiales y tecnológicos disponibles, lo que dificulta la realización de un trabajo de calidad y seguro.

Aunque la satisfacción con la calidad docente muestra resultados mixtos, es notable que casi la mitad de los residentes se siente completamente preparado para ejercer como especialista.

Los residentes también reportan dificultades significativas para conciliar su vida personal y profesional, lo que repercute negativamente en su salud mental, generando altos índices de burnout y síntomas depresivos. La falta de evaluación periódica justa y la insuficiente retroalimentación por parte de los tutores también son puntos críticos que requieren atención inmediata.

**Propuesta de puntos de mejora**

- Reducción de la carga laboral y mejora en la conciliación de la vida personal y laboral: Se debe reducir la carga horaria excesiva de los residentes, limitando las horas extraordinarias y garantizando un mejor equilibrio entre la vida laboral y personal, para prevenir el agotamiento y el estrés. Es fundamental implementar políticas de descanso, promover hábitos saludables (como ejercicio físico y descanso adecuado) y priorizar el bienestar emocional de los residentes.
- Mejora de los recursos materiales y tecnológicos: Se hace urgente aumentar el número y la calidad de los recursos disponibles para los residentes, como microscopios, mesas con campanas extractoras y ordenadores. Además, se deben mejorar las instalaciones, garantizando la seguridad en el entorno laboral, sobre todo en lo que respecta a la exposición a productos químicos y el mantenimiento de las áreas de trabajo.
- Optimización de la formación y la evaluación: Es necesario revisar la distribución del tiempo de formación para asegurar un enfoque más equilibrado entre las diferentes áreas formativas. Además, se debe incrementar la frecuencia de las evaluaciones, asegurando que se realicen al menos cuatro veces al año, y garantizar que estas sean justas, precisas y reflejen adecuadamente el desempeño de los residentes. También se debe aumentar la retroalimentación constructiva de los tutores y fomentar su interés por el desarrollo profesional de los residentes.
- Fomento de las rotaciones externas y actividades docentes extracurriculares: Se deben flexibilizar las condiciones para la realización de rotaciones externas, permitiendo que los residentes las realicen de manera más continua durante toda la residencia. Estas rotaciones son esenciales para adquirir habilidades avanzadas en técnicas emergentes como la patología molecular y la inteligencia artificial. Su limitada disponibilidad perpetúa la brecha entre los avances tecnológicos y la formación recibida. Además, es crucial incrementar la oferta de actividades docentes extracurriculares y garantizar que los residentes cuenten con apoyo económico para su participación, favoreciendo así una formación más completa y enriquecedora.
- Atención a la salud mental y prevención del burnout: Es esencial proporcionar apoyo psicológico adecuado a los residentes, para detectar y tratar los síntomas de estrés y burnout de forma temprana. La supervisión de los tutores debe ser reforzada, para identificar señales de agotamiento y proporcionar el apoyo necesario. Además, se deben implementar políticas que favorezcan una formación más sostenible y humana, garantizando el éxito formativo sin comprometer la salud de los residentes.
- Revisión de la política retributiva y equidad: Se debe trabajar en la mejora de la remuneración de los residentes, eliminando las disparidades salariales entre comunidades autónomas y ajustando la compensación económica por horas extraordinarias y guardias. Es fundamental establecer límites claros para las jornadas laborales y las guardias, así como garantizar una remuneración adecuada por las horas trabajadas.

Implementando estas medidas, se podría mejorar significativamente la calidad de la formación, la satisfacción de los residentes y su bienestar general, contribuyendo a una mayor retención de los profesionales y una mejora en la atención sanitaria.

**Bibliografía**

1. European Society of Pathology (ESP). Pathology in the 21st century: workload, workforce, and innovation. Eur J Pathol. 2022;28(6):569-75.

2. Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP). Informe: análisis de la anatomía patológica en España [Internet]. 2024 [citado 30 de enero de 2025]. Disponible en: https://www.seap.es.

3. Barber Pérez P, González López-Valcárcel B. Actualización: Informe de necesidad de médicos especialistas en España 2023-2035. EcoSalud. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria; abril 2024.

4. Ministerio de Sanidad. Requisitos para la acreditación de unidades docentes en anatomía patológica [Internet]. Disponible en: https://www.sanidad.gob.es.

Sociedad Española de Anatomía Patológica

*International Academy of Pathology*